



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

RÔAS DE ARAUJO COSTA

Extrato hidroetanólico da entrecasca da *S. Cumini* (L.) *skeels*
reduz o estresse oxidativo de ratos wistar submetidos ao
treinamento de natação intervalado de alta intensidade

SÃO CRISTOVÃO

2017

RÔAS DE ARAUJO COSTA

Extrato hidroetanólico da entrecasca da *S. Cumini* (L.) skeels
reduz o estresse oxidativo de ratos wistar submetidos ao
treinamento de natação intervalado de alta intensidade

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação
em Ciências Fisiológicas da
Universidade Federal de
Sergipe como requisito à
obtenção do grau de Mestre em
Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Charles
dos Santos Estevam

SÃO CRISTOVÃO

2017

RÔAS DE ARAUJO COSTA

Extrato hidroetanólico da entrecasca da *S. Cumini* (L.) skeels
reduz o estresse oxidativo de ratos wistar submetidos ao
treinamento de natação intervalado de alta intensidade

Dissertação apresenta ao
Programa de Pós-graduação
em Ciências Fisiológicas da
Universidade Federal de
Sergipe como requisito à
obtenção do grau de Mestre em
Ciências Fisiológicas.

APROVADO EM: __/__/__

Orientador: Prof. Dr. Charles dos Santos Estevam

Examinador(a) 1: Prof^a. Dr^a. Carla Maria Lins de Vasconcelos

Examinador 2: Prof. Dr. Tharciano Luiz Teixeira Braga da Silva

AGRADECIMENTOS

A Deus acima de tudo, pela força e por proporciona todas as condições para que eu pudesse me manter motivado e perseverante todos os dias, principalmente pela saúde da minha família.

Aos meus pais, Maria de Araujo Costa e Rômulo Santos Costa por oferecerem todas as condições possíveis e incentivos para o meu desenvolvimento pessoal e profissional. A minha irmã Rayra Vitoria de Araujo Costa pelo seu amor e carinho comigo.

Ao meu orientador professor Dr. Charles dos Santos Estevam pelo acolhimento e orientação. Em especial aos meus amigos, Dr. Samuel Bruno, Dr^a Kelly Teixeira e Msc. Jymmys Lopes por todo o auxílio, ensinamentos e conselhos durante o período do mestrado. Aos meus amigos e colaboradores Lúcio Marques e Samuel pela amizade, companheirismo e bons momentos durante os experimentos. Ao professor Dr. Silvan Araújo pela contribuição intelectual na execução deste trabalho e a professora Dr^a Andrea Shan pelas correções deste trabalho.

Aos demais colegas do Laboratório de Química e Bioquímica de Produtos Naturais (LQBPN) pela amizade e boas recordações: Andressa, Msc. André, Msc. Adélia, Dr^a. Carla, Msc. Clésio, Jéssica, Karina, Ludmila, Msc. Marcel, Dr. Mateus, Pietra e Sabrina.

Aos meus amigos da Turma 2015/2 do mestrado em ciências fisiológicas, Clarissa, Kelly e Marcos pela amizade, parceria e momentos de alegrias que foram essenciais durante esse período.

Aos membros do LAFICO – Laboratório de Fisiologia do Comportamento pela colaboração e apoio.

Ao programa de pós-graduação em Ciências Fisiológicas.

*“Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu
É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu” (Ana Vilela)*

RESUMO

O exercício físico de alta intensidade e/ou exaustivo, pode induzir o estresse oxidativo, tanto em atletas como em indivíduos fisicamente ativos ou sedentários. Desta forma o uso de antioxidantes surge como alternativa para prevenir ou atenuar esse efeito. A *Syzygium cumini* (L.) Skeels conhecida popularmente como jambolão, é uma espécie bastante encontrada em regiões de clima tropical, é uma espécie rica em compostos fenólicos com potencial atividade antioxidante. O Objetivo principal do estudo foi avaliar o efeito de 21 dias de suplementação com extrato hidroetanólico da *S. Cumini* (EHE) em animais submetidos a um protocolo de 3 semanas de treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), 5 sessões por semana. Desta forma, foram utilizados ratos Wistar (250-300g) (CEPA: 58/2016). Os animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos (n=10): Sedentário (GC), sedentários tratados com EHE (GEHE), animais submetidos ao treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) (GE), animais submetidos ao (HIIT) e tratados com EHE (GE+EHE) e animais submetidos ao (HIIT) e tratados com quercetina (GE+Q). Os resultados demonstraram que o tratamento com EHE foi eficaz em reduzir o dano oxidativo nos tecidos avaliados: GT: 14,49±1,78 vs GT+EHE: 8,16±0,54 nmol EqMDA/mL de sangue, no músculo (GT: 9,61±1,51 vs GT+EHE 7,46±0,69 nmol EqMDA/mg de tecido), fígado (GT: 40,85±7,05 vs GT+EHE: 19,97±5,95 nmol EqMDA/mg de tecido) e coração (GT: 18,06±2,88 vs 12,64±2,37 nmol EqMDA/mg de tecido), enquanto para a quantificação de grupamentos sulfidrilas os animais tratados com EHE tiveram seus grupos tiois preservados. Desta maneira, conclui-se que o tratamento diário durante 21 dias com EHE foi capaz de atenuar o dano oxidativo em ratos wistar submetidos a um protocolo de HIIT durante 3 semanas.

Descritores: *Syzygium cumini* – HIIT – antioxidante – estresse oxidativo – produtos naturais.

ABSTRACT

High intensity and / or exhaustive physical exercise may induce oxidative stress in athletes as well as in physically active or sedentary individuals. In this way the use of antioxidants appears as an alternative to prevent or mitigate this effect. *Syzygium cumini* (L.) Skeels, commonly known as jambolan, is a species found in tropical regions and is a species rich in phenolic compounds with potential antioxidant activity. The main objective of the study was to evaluate the effect of 21 days of supplementation with *S. cumini* hydroethanolic extract (EHE) in animals submitted to a protocol of 3 weeks of high intensity interval training (HIIT), 5 sessions per week. In this manner, wistar rats (250-300g) (CEPA: 58/2016) were used. The animals were randomly divided into 5 groups (n = 10): Sedentary (GC), sedentary animals treated with EHE (GEHE), animals submitted to high intensity interval training (HIIT) With EHE (GE + EHE) and animals submitted to (HIIT) and treated with quercetin (GE + Q). The results showed that EHE treatment was effective in reducing oxidative damage in the evaluated tissues: GT: 14.49 ± 1.78 vs GT + EHE: 8.16 ± 0.54 nmol EqMDA / mL of blood in the muscle (GT: 9.61 ± 1.51 vs. GT + EHE 7.46 ± 0.69 nmol EqMDA / mg of liver), liver (GT: 40.85 ± 7.05 vs. GT + EHE: $19.97 \pm 5,95$ nmol EqMDA / mg tissue) and heart (GT: 18.06 ± 2.88 vs. 12.64 ± 2.37 nmol EqMDA / mg tissue), while for the quantification of sulfhydryl groups the EHE treated animals had their Preserved thiols groups. Thus, it was concluded that daily treatment for 21 days with EHE was able to attenuate oxidative damage in wistar rats submitted to a HIIT protocol for 3 weeks.

Descriptors: *Syzygium cumini* - HIIT - antioxidant - oxidative stress - natural products.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1	Modelo básico das vias de sinalização do exercício físico.	5
Figura 2	Mecanismo básico da produção e ação dos RL.	8
Figura 3	Exercício e Hormesis.	11
Figura 4	Estrutura básica dos flavonoides.	17
Figura 5	Subclasses dos Flavonoides. (A) flavononas, (B) flavonas, (C) flavonóis, (D) antocianidinas ou antocianinas, (E) isoflavonas e (F) catequinas.	17
Figura 6	Folhas e frutos da <i>Syzygium cumini</i> (L.) skeels.	20
Figura 7	Desenho experimental.	29
Tabela 1	Atividade antioxidante <i>in vitro</i> do EHE da <i>Syzygium cumini</i> (L.) skeels.	32
Figura 8	Efeito do consumo do extrato hidroetanólico da entrecasca (EHE) da <i>Syzygium cumini</i> (L.) skeels sobre a concentração de malondialdeído (MDA) em tecido sanguíneo (A) tecido muscular (gastrocnemius) (B), tecido hepático (C) e tecido cardíaco (D).	33
Figura 9	Efeito do consumo do extrato hidroetanólico (EHE) da entrecasca de <i>Syzygium cumini</i> (L.) skeels sobre a concentração de grupamentos sulfidrilas no tecido sanguíneo (A), tecido muscular (gastrocnêmio) (B), tecido hepático (C), tecido cardíaco (D).	34

LISTA DE ABREVIATURAS

AlCl₃ – Cloreto de alumínio
ANOVA – Análise de variância
AMP – Adenosina monofosfato
AMPK – Proteína quinase ativada por AMP
CAT – Catalase
Ca²⁺ - Cálcio
CaM – Calmodulina
CaMK –Quinase dependente de cálcio/calmodulina
CK – Creatina quinase
DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
DNA – Ácido desoxirribonucleico
EHE – Extrato hidroetanólico da entrecasca
ERN – Espécies reativas de nitrogênio
EROS – Espécies reativas de oxigênio
Fe²⁺- Ferro
FeSO₄ – Sulfato ferros
GPx – Glutathione peroxidase
GSH - Glutathione
GSSH – Glutathione reduzida
H₂O₂ – Peroxido de hidrogênio
HIIT – Treinamento intervalado de alta intensidade
O₂ - Oxigênio
OH – Hidroxila
OR - *Overreaching*
OT - *Overtraining*
MAPK – Proteína quinase ativada por mitógeno
MDA - Malondialdeído
NADPH – Fosfato de dinucleótido nicotinamida adenina
NO – Óxido nítrico
NOS – Óxido nítrico sintase
NF-κB – Fator nuclear kappa beta

NrF2 – Fator nuclear relacionado ao eritróide 2

PGC-1 α - co-ativador-1 alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma

PPAR - Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomo

RL –Radicais livres

SOD – Superoxido dismutase

TBA – Ácido tiobarbitúrico

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

UV-VIS – Ultravioleta visível

v.O – Via oral

XO – Xantina oxidase

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Exercício físico	4
2.2 Radicais Livres (RL) e Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) e Nitrogênio (ERN).....	7
2.3 Estresse oxidativo e exercício físico	10
2.3 Sistemas de defesa antioxidante	13
2.3.1 Antioxidantes endógenos	13
2.3.2 Antioxidante exógenos	14
2.3.3 Flavonoides	16
2.4 Syzygium cumini (L.) skeels	19
3. OBJETIVOS.....	23
3.1. Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos	23
4. MATERIAIS E METODOS	24
4.1 Coleta do material vegetal	24
4.2 Preparação do extrato bruto vegetal.....	24
5.3 Testes fitoquímicos quantitativos	24
5.3.1 Determinação de fenóis totais	24
5.3.2 Determinação de flavonoides.....	25
5.4 Atividade antioxidante <i>in vitro</i>.....	25
5.4.1 Capacidade sequestradora do radical DPPH•.....	25
5.4.2 Avaliação da atividade redox TBARS <i>in vitro</i>	27
5.5 Ensaio biológico <i>in vivo</i>.....	27
5.5.1 Animais.....	27
5.5.2 Grupos experimentais	28
5.5.3 Protocolo de Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT)	28
5.6 Determinação da atividade redox protetora <i>in vivo</i>.....	30
5.6.1 Determinação de TBARS <i>in vivo</i>	30
5.6.2 Determinação de sulfidrilas totais (tióis).....	30
5.7 Análise estatística.....	31
6. RESULTADOS	32
6.1 Testes fitoquímicos	32

6.1.1 Quantificação de fenóis totais	32
6.2 Atividade antioxidante <i>in vitro</i>.....	32
6.2.1 Capacidade sequestradora do radical DPPH•.....	32
6.2.2 Avaliação da atividade redox TBARs in vitro	33
6.3 Determinação da atividade redox protetora <i>in vivo</i>.....	33
6.3.1 Determinação de TBARs <i>in vivo</i>	33
6.3.2 Determinação de sulfridilas totais.....	35
7. DISCUSSÃO	38
8. CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1. INTRODUÇÃO

O treinamento intervalado é caracterizado por envolver repetidas sessões de exercício relativamente intenso intercalados por períodos de recuperação (GIBALLA; MCGEE, 2008). As adaptações a este tipo de treinamento são de acordo com o protocolo de exercício utilizado, enquanto os exercícios de endurance estão relacionados principalmente com a melhora da capacidade aeróbica o exercício resistido fornece sobretudo aumento da força muscular (ASTORINO et al., 2013; MCRAE et al., 2012).

Atualmente, o treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), tem ganhado popularidade como uma intervenção tempo-eficiente para melhora do condicionamento aeróbico em poucas sessões de treinamento (LITTLE et al., 2010). Podendo ser utilizado como alternativa ao treinamento contínuo, para melhoria da saúde e diminuição do risco de doenças crônicas não transmissíveis, uma vez que a falta de tempo para a prática regular de exercícios físicos é a barreira mais citada pela população em geral (TROST et al., 2002).

Durante o exercício físico o músculo ativo sofre momentâneos estados de isquemia e reperfusão, mecanismo esse responsável pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) (MOSCARDINI et al., 2012). No entanto, mesmo em repouso as células musculares produzem EROs continuamente, sendo que o radical superóxido ($O_2\bullet$) é a principal espécie reativa de oxigênio gerada pelo músculo esquelético, pelas mitocôndrias e no citosol da célula muscular (POWERS; JACKSON, 2008).

As EROs são responsáveis por causarem danos oxidativos em biomoléculas alterando suas propriedades funcionais, no entanto, sabe-se que a produção de radicais livres (RL) é fundamental para os processos de sinalização celular responsáveis por induzir adaptações fisiológicas (PISOSCHI; POP, 2015). Apesar de o organismo humano apresentar um complexo sistema de defesa antioxidante endógeno, que neutraliza os RL, as células podem apresentar desordens fisiológicas, como apoptose, devido ao dano irreparável causado por eles ao DNA (VALKO et al., 2007). Além disso, é conhecido que a deficiência de alguns nutrientes como vitamina C, E e zinco associada ao exercício de alta intensidade contribui para a depleção do

sistema de defesa antioxidante levando a uma consequente redução da capacidade do organismo para remover as EROs e prevenir lesões oxidativas em biomoléculas (GROUSSARD et al., 2003).

Um biomarcador bastante utilizado para a detectar a presença de dano oxidativo em biomoléculas é o malondialdeído (MDA), cujo é um produto intermediário da oxidação de lipídios (AYALA et al., 2014). Fisher e colaboradores (2011) demonstraram que imediatamente após uma sessão de HIIT a concentração de MDA aparece elevada. Embora, com o treinamento, observa-se o aumento do sistema de defesa antioxidante e diminuição dos marcadores de dano oxidativo, sugerindo assim, uma possível adaptação (BOGDANIS et al., 2013)

Embora a produção de RL pelo exercício físico seja necessária para diversos processos de sinalização celular incluindo a expressão de enzimas antioxidantes (STEINBACHER; ECKEL, 2015). Tem se observado que indivíduos submetidos a exercícios de alta intensidade com maiores frequências são suscetíveis ao estresse oxidativo e imunodepressão (VARAMENTI et al., 2013), dessa forma, a pratica frequente do treinamento de alta intensidade pode apresentar riscos para performance esportiva e saúde, como observado em atletas com síndrome do *overtraining* (OT) (LEWIS et al., 2017). O OT é caracterizado como o acúmulo de treinamento e/ou estresse resultando em diminuição da performance física a longo prazo com ou sem sinais de alterações fisiológicas, psicológicas e sintomas de má adaptação, tendo duração entre semanas a meses (MEEUSEN et al., 2013).

Atletas com OT apresentam sintomas como depressão do sistema imune, alterações hormonais, diminuição da performance, aumento exacerbado dos marcadores de dano muscular e estresse oxidativo (LEWIS et al., 2017). Sendo assim, novas estratégias vêm sendo desenvolvidas no campo do exercício físico e da saúde, entre as quais destacam-se a utilização de antioxidantes como vitamina C, E e constituintes fitoquímicos, como os polifenóis presentes em frutas, verduras e legumes e/ou chás provenientes de vegetais (MYBURGH, 2014).

Neste sentido, foi observado em seres humanos, que a ingestão aguda ou regular de alimentos ricos em polifenóis podem prevenir ou reduzir possíveis danos celulares causados pelo aumento de EROs e estresse oxidativo, em resposta ao esforço físico de alta intensidade (PANZA, 2008).

A *Syzygium cumini* (L.) skeels é conhecida popularmente como jambolão uma espécie bastante encontrada em regiões com o clima tropical, como no Brasil. Demonstra ter efeito hipoglicemiante e antioxidante, cujo são associados a grande concentração de compostos fenólicos em sua composição química. Onde a entrecasca apresenta maiores teores de compostos fenólicos em relação a outros órgãos vegetais (MOREIRA, 2014). Dessa forma o uso do seu extrato pode ser utilizado para atenuar o estresse oxidativo e dano celular resultante do treinamento de alta intensidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Exercício físico

O exercício físico consiste em uma atividade física estruturada, planejada, que envolve movimentos repetitivos e propositais em função da melhoria ou manutenção de um ou mais componentes da aptidão física tais como, sistema cardiorrespiratório, composição corporal, força e/ou resistência muscular e flexibilidade (CASPERSEN et al., 1985; KHAN et al., 2012). As adaptações fisiológicas adquiridas com treinamento físico são determinadas de acordo com a tipo do exercício realizado, podendo ele ser de *endurance* ou resistido (HAWLEY et al., 2014).

O treinamento de *endurance*, é um potente regulador da capacidade oxidativa no músculo esquelético, melhora da resistência muscular e metabolismo aeróbio (JACOBS; LUNDBY, 2013). Enquanto o treinamento resistido promove principalmente a hipertrofia muscular e aumento da capacidade de geração de força pelo músculo esquelético (PHILIPS, 2014).

Ao que se refere ao treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) Gibala e McGee (2008) descreveram como sendo, repetidas sessões de exercício relativamente intenso intercalados por períodos de recuperação. A depender do tipo de protocolo utilizado este tipo de treinamento pode exercer adaptações relacionadas ao treinamento de *endurance* e/ou treinamento resistido (MACINNIS; GIBALA, 2017). Dessa forma, as vias fisiológicas estimuladas por cada tipo de exercício exercem papéis fundamentais na diferenciação das respostas individuais a eles.

O exercício resistido é um potente regulador da expressão e liberação do fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-1) (AHTIAINEN et al 2016). A ligação do IGF-1 ao seu receptor ativa uma rede de sinalização celular que regula múltiplos processos fisiológicos, como a síntese proteica, processo esse, que demonstra estar relacionado com a ativação da proteína mTOR (alvo da rapamicína de mamíferos) (SARFSTEIN; WERNER, 2013; PAN; FINKEL, 2017). Philips (2014) demonstrou que a síntese de proteínas miofibrilares é responsável pela hipertrofia muscular e aumento da força contrátil, por meio da ativação mTOR estimulada pelo treinamento resistido.

Sendo assim, após a ativação do receptor de IGF-1, há consequentemente a fosforilação e ativação da enzima fostatidilinositol-3-quinase (PI3K), após sua ativação

a PI3K irá fosforilar lipídios da membrana plasmática formando um segundo mensageiro o fosfatidoinositol-(3,4,5)-trifosfato que irá recrutar a proteína Akt (serina/treonina quinase), dando início a uma cascata de fosforilação até a ativação da mTOR, que seguirá por ativação de fatores de transcrição responsáveis pela síntese proteica muscular (HAWLEY et al., 2011; SARFSTEIN; WERNER, 2013) (figura 1).

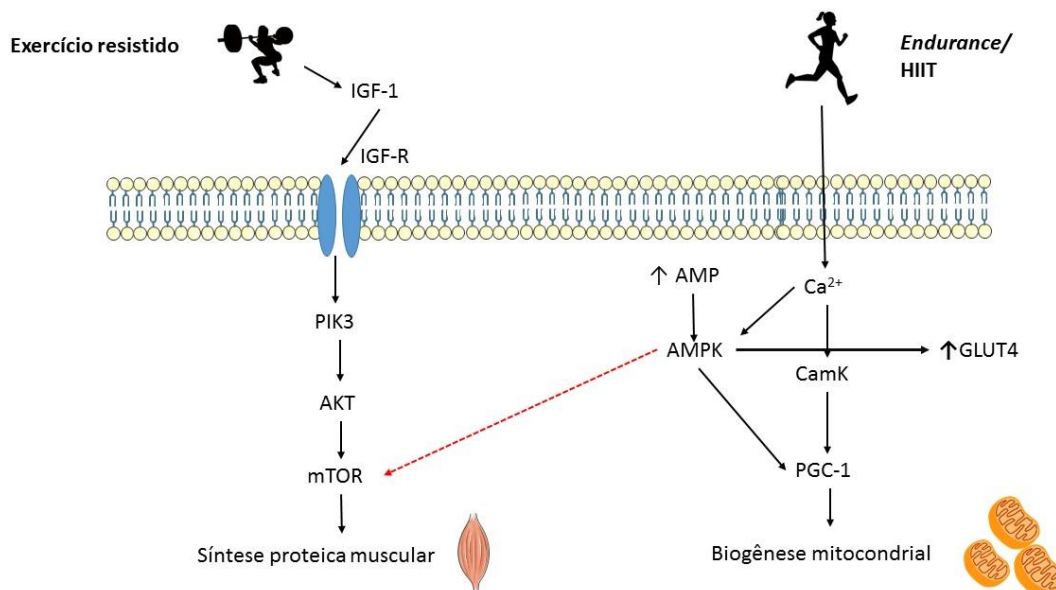


Figura 1. Modelo básico das vias de sinalização do exercício físico. Adaptado de Hawley e colaboradores (2011)

Enquanto que, o exercício de endurance estimula a biogênese mitocondrial melhorando o metabolismo oxidativo na fibra muscular esquelética, proporcionando resistência muscular e aumento da capacidade aeróbia (HAWLEY et al., 2011; JACOBS; LUNDBY, 2013).

Devido a contração muscular contínua, há o aumento dos níveis de Ca^{2+} intracelulares, esse Ca^{2+} , se liga a proteína calmodulina (CaM) formando o complexo Ca^{2+} /CaM. Em seguida, esse complexo interage com a proteína quinase dependente de Ca^{2+} /CaM (CamK). Essa enzima na sua forma ativa, irá ativa o fator de transcrição PGC1 α , que dará início a expressão gênica para a síntese de novas mitocôndrias no musculo esquelético (HAWLEY et al., 2011; HEINONEN et al., 2014). Com relação aos eventos moleculares decorrentes do HIIT, foi demonstrado o aumento da expressão do PGC-1 α e AMPK. (METCALFE et al., 2015).

Em idosos, o HIIT, mesmo realizado em baixa frequência, apresenta melhora da potência dos membros inferiores (SCULTHORPE et al., 2017). Em pacientes diabéticos tipo 2, o HIIT demonstra ser mais efetivo para aumento $VO_2\text{max}$, oxidação de ácido graxo e diminuição da concentração de hemoglobina glicada quando comparado ao treinamento contínuo de intensidade moderada (RUFFINO et al., 2017; STOA et al., 2017). Atualmente, sugere-se a implementação do HIIT na periodização de atletas durante a sua preparação, tendo como impacto o aumento da capacidade aeróbia, anaeróbia e estímulo anabólico (SHEYKHLOUVAND et al., 2016).

Embora, o exercício físico seja comprovadamente benéfico para a saúde, quando se fala em treinamento de alta intensidade e grandes volumes de treino, observa-se uma relação direta entre a carga de treinamento de atletas e risco de lesão e doenças (SOLIGARD et al., 2016). Drew e Finch (2016) relatam que quanto maior a carga de trabalho sobre o atleta, maior serão os riscos de lesão e doença. O excesso de carga de treinamento acarreta em síndromes conhecidas como *overreaching* (OR) e *overtraining* (OT). O OR consiste no acúmulo de treinamento e/ou não estresse, resultando em diminuição em curto prazo da capacidade de desempenho, com ou sem alterações fisiológicas, sinais psicológicos e sintomas de má adaptação enquanto no OT a diminuição da capacidade de desempenho pode durar de várias semanas até meses (MEEUSEN et al., 2013).

A contração do músculo esquelético, por meio do exercício físico, induz o aumento da produção de EROs na célula muscular. Essa produção de EROs ocorre em compartimentos específicos da célula como mitocôndria, citosol, túbulos transversos e retículo sarcoplasmático e sarcomela (JACKSON; MCARDLE, 2011). Na mitocôndria os EROs são gerados, especificamente na cadeia transportadora de elétrons, enquanto no citosol celular ocorre através da ação da enzima xantina oxidase ou da enzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidase, esta enzima também atua nas demais organelas como no túbulo transverso, retículo sarcoplasmático e sarcomela (JACKSON, 2015; POWERS et al., 2011).

O excesso de RL, tais como os EROS e as espécies reativas de nitrogênio (ERN) alteram a homeostase redox, pelo desequilíbrio do sistema antioxidante e oxidante, levando ao dano a macromoléculas, como lipídios, proteínas e DNA, enquanto há a ruptura da sinalização redox, resultando em uma condição chamada de estresse oxidativo (SIES; JONES, 2007). O estresse oxidativo, por sua vez, vem

sendo associado a diminuição da performance física, aumento de marcadores de lesão muscular e imunodepressão (LEWIS et al., 2015).

2.2 Radicais Livres (RL), Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) e Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN)

São considerados radicais livres qualquer átomo, grupo de átomo ou molécula que possui um ou mais elétrons não pareados nos orbitais externos, sendo instáveis e altamente reativos com proteínas, lipídios e DNA (PISOSCHI; POP, 2015). Os elementos químicos instáveis tendem a ligar seus elétrons desemparelhados a outros elementos e estruturas celulares, dessa forma, podendo ceder um elétron (radical redutor) ou captar um elétron (radical oxidante) (KOURY; DONANGELO, 2013). Dentre eles podem-se citar os radicais superóxido (O_2^\bullet), hidroxila (OH^\bullet), alcóxila (RO^\bullet), peróxila (ROO^\bullet), hidroperoxila (OOH^\bullet), o ácido hipocloroso ($HOCL$), o óxido nítrico (NO^\bullet) e o oxigênio singleto (O_2^-) (YE et al., 2015).

Nas células, os RL são gerados em processos aeróbios como a respiração celular, infecções envolvendo o recrutamento de células fagocitárias, durante atividade física intensa, fumaça de cigarro, radiações ionizantes e não ionizantes, dentre outros fatores ambientais (POLJSK et al., 2011; VEZZOLI et al., 2016). As EROS são produzidas por diversas organelas intracelulares incluindo a mitocôndria, retículo endoplasmático e peroxissoma, em conjunto por várias enzimas como as NADPH oxidases (NOXs), oxigenases e óxido nítrico sintase (NOS) que geram espécies reativas como parte de suas reações enzimáticas (HOLMSTRÖM; FINKEL, 2014).

O radical superóxido é produzido nas mitocôndrias, especificamente no complexo I e III da cadeia transportadora de elétrons, a partir de uma reação de redução em que o oxigênio molecular (O_2) ganha um elétron da dinucleotídeo de nicotinamida em sua forma reduzida (NADH) e da dinucleotídeo de flavina e adenina em sua forma reduzida ($FADH_2$), como também, no citosol celular, através da ação do complexo NADPH oxidase (BEDARD; KRAUSE, 2007). O superóxido então é dismutado espontaneamente ou através da ação da enzima superóxido dismutase (SOD) na matriz mitocondrial ou no citosol celular produzindo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou convertido em água (H_2O) pela glutathione peroxidase (GPx),

peroxirredoxinas (PRx) ou catalase (CAT) (figura 2) (SENNA e CHANDEL, 2012; SCHIEBER e CHANDEL, 2014).

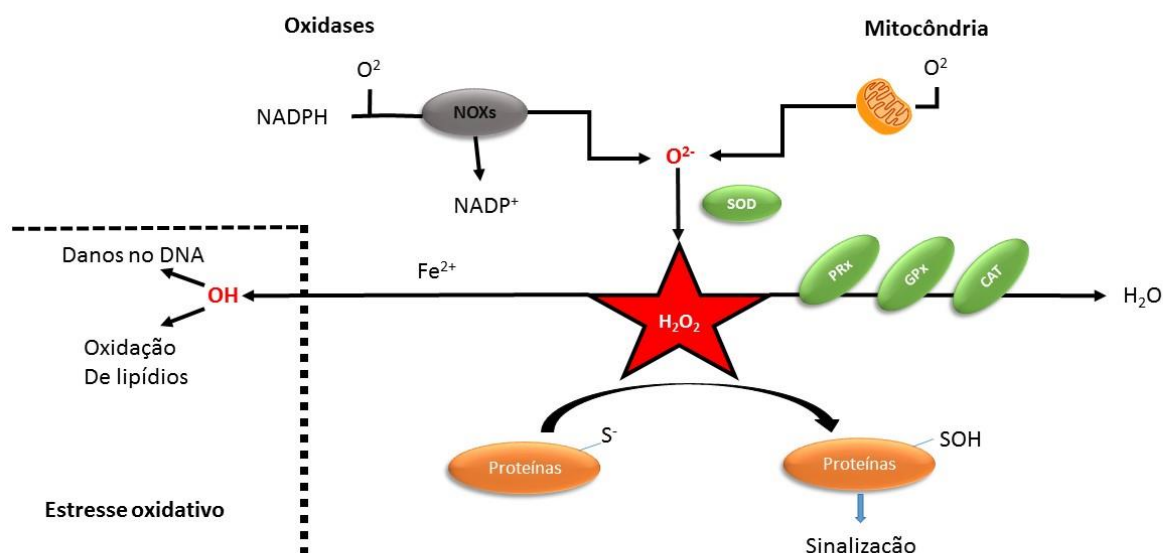


Figura 2. Mecanismo básico da produção e ação dos RL. Adaptado de Schieber e Chandel (2014).

No primeiro caso, embora o H₂O₂ seja considerado um não radical, apresentando um tempo de meia vida relativamente longo se comparado com os RL propriamente ditos, ele se difunde rapidamente através das membranas mitocondriais internas e externas chegando ao citosol. A OH• entre as EROS é o quimicamente mais reativo, atacando inespecificamente biomoléculas incluindo os lipídios, ele pode ser formado a partir de um sistema onde o íon Fe²⁺ reage com o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) através da reação de Fenton gerando OH•, o qual, apresenta papel importante na peroxidação lipídica (LIPINSKI, 2011).



A peroxidação lipídica é um dos principais biomarcadores de dano tecidual mediado por radicais livres, ela pode ser definida como processo cujo oxidantes como

RLs atacam lipídios contendo duplas ligações entre carbonos, especialmente os ácidos graxos poli-insaturados, que por sua vez, são mais susceptíveis à peroxidação lipídica por possuírem maior número de ligações insaturadas (CATALÁ, 2013). O radical $\text{OH}\cdot$ reage com o ácido graxo retirando um hidrogênio alílico de sua estrutura formando o radical lipídico ($\text{L}\cdot$), que conseqüentemente, reage de forma rápida com O_2 , gerando o radical peroxila ($\text{LOO}\cdot$), esse radical então sequestra um H^+ , formando um lipídio novo e peróxido lipídico (LOOH), dando continuidade a reação lipoperoxidação. O LOOH após ciclização produz endoperoxidos bíciclicos, este por sua vez, sofre clivagem formando assim o malondialdeído (MDA), um produto secundário da oxidação de lipídios poli-insaturados bastante utilizado como biomarcados de estresse oxidativo associados a condições clínicas (AYALA et al., 2014).

A oxidação de aminoácidos, lipídios e DNA induzidas pelas espécies reativas podem comprometer a capacidade funcional de determinadas moléculas. A oxidação de aminoácidos contendo enxofre como metionina e cisteína, modulam alterações reversíveis e irreversíveis na estrutura de diversas proteínas, alterando conseqüentemente sua função fisiológica. As proteínas que contêm grupos tióis ($-\text{SH}$) conservados em resíduos de cisteína são sensíveis a reações redox, os grupos sulfidrilas na cadeia lateral dessas proteínas são suscetíveis a reações de transferência de elétrons (MORAN et al., 2001). As EROs medeiam reações reversíveis e irreversíveis em proteínas através da oxidação dos grupos tióis, formando ácido sulfénico, ácido sulfínico, dissulfetos de cisteína e sulfóxido de metionina em reações reversíveis, em condições de estresse oxidativo, as reações de hidroxilação, nitração, adução de lipídios oxidados, glicoxidação e conversão dos resíduos de aminoácidos para derivados de carbonila, regulam as alterações irreversíveis (PAJARES et al., 2015).

Atualmente sabe-se que as espécies reativas são essenciais para o processo de sinalização celular e uma variedade de processos fisiológicos incluindo regulação da proliferação e diferenciação celular, autofagia, sistema imune e adaptações metabólicas (PISOSCHI; POP, 2015). Os fatores de crescimento epidermal (EDF) e derivado de plaquetas (PDGF) demonstra aumentar a produção de EROs pela ação da NADPH oxidase, desse modo, o H_2O_2 ao EDF leva a oxidação do resíduo de cisteína catalítico da fosfatase responsável pela ativação do receptor de EDF para a

forma sulfénica, inativando toda a via de transmissão de sinal responsável pelo crescimento celular (SCHIEBER; CHANDEL et al., 2014).

2.3 Estresse oxidativo e exercício físico

Sies (1985) foi o primeiro a descrever o conceito de estresse oxidativo, segundo ele, pode ser entendido como o distúrbio do balanço pró-oxidante e antioxidante a favor do primeiro, resultando em dano oxidativo em macromoléculas. Entretanto, Jones (2006) descreveu estresse oxidativo como a disrupção da sinalização redox e controle, pois o mecanismo de oxidação de macromoléculas é essencial para que haja a sinalização celular. Dessa forma Sies e Jones (2007) implementaram um novo conceito, definindo o estresse oxidativo como um desequilíbrio entre, oxidante e antioxidante a favor do oxidante, levando a disrupção da sinalização redox e controle e/ou dano molecular.

Mattson (2008) definiu hormesis, como um processo em que a exposição a uma dose baixa de um agente químico ou um fator ambiental que seja prejudicial em doses altas induz a um efeito benéfico sobre a célula ou organismo. Desta forma, a produção de RL pelo exercício até determinada intensidade traz efeitos benéficos a saúde, como a melhora da capacidade antioxidante (BOGDANIS et al., 2013). Entretanto, quando há excesso na carga de treinamento, e consequente produção exacerbada de espécies reativas, observar-se o efeito negativo do exercício (Figura 3) (PINGITORE et al., 2015).

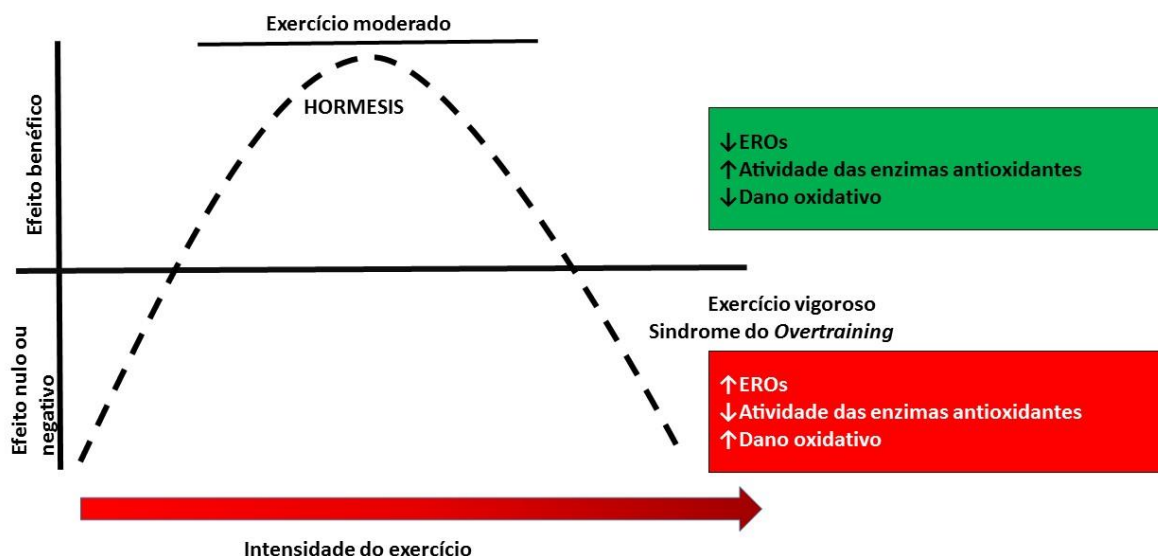


Figura 3. Exercício e Hormesis. Adaptado de Pingitore (2015)

A produção de EROs no músculo esquelético é necessária para que haja sinalização redox implicando em processos fundamentais na célula muscular, como produção de força durante a contração, captação de glicose e aumento na concentração de proteínas antioxidantes (STEINBACHER; ECKEL, 2015). O dano oxidativo causado na enzima ATPase no retículo sarcoplasmático resulta em diminuição da receptação de cálcio por esta organela, podendo levar a um desequilíbrio na homeostase de Ca^{2+} e redução da contratilidade muscular (BLOOMER, 2008). As EROs também podem atuar, no músculo esquelético, diretamente sobre a proteína quinase ativada por mitogêno (MAPK) e tirosina fosfatase através da modificação redox-dependente dos resíduos de cisteína dessas proteínas (CORCORAN; GOTTER a, 2013). De acordo com Bernard e colaboradores (2015) a via de sinalização da MAPK demonstra regular o processo de ativação e transdução de genes mitocondriais em miofibroblastos.

Sabendo que a contração muscular gera um aumento da produção de RL dentro da célula (POWERS et al., 2011). O exercício físico aparece como o principal regulador do estado redox no músculo esquelético, alterando a atividade das enzimas pró e antioxidantes dentro do músculo. O aumento da presença de EROS e ERNs induz a expressão da enzima antioxidante GPx via ativação do fator de transcrição

Nrf2 (WANG; HAI, 2016). Pimenta e colaboradores (2017) observaram que camundongos fêmeas ovariectomizadas alimentadas por 12 semanas por uma dieta hiperlipídica ao serem submetidas a 8 semanas de HIIT, 3 vezes por semana, melhoram a capacidade antioxidante do músculo, com o aumento da expressão das enzimas SOD, GPx, glutathione redutase (GR) e Catalase.

Enquanto Ramos-filho e colaboradores (2015) demonstraram que ratos submetidos ao mesmo protocolo de HIIT durante 6 semanas, 3 vezes por semana, tem sua produção de H_2O_2 aumentada ao final do treinamento nos músculos tibial anterior e gastrocnêmios. O H_2O_2 e NO produzidos pela contração muscular diminuem a razão GSH/GSSG acompanhado do aumento na liberação das interleucinas-1 e 6 (IL-1) e (IL-6) (ZEMBRON-LACNY et al., 2010). A liberação de IL-6 pelo exercício induz aumento da lipólise, gliconeogênese e regula a produção das citocinas inflamatórias (FISCHER, 2006). O H_2O_2 também é conhecido por ativar o fator de transcrição Nrf2/keap1 (COVAS et al., 2013), entretanto é demonstrado que em situação de estresse oxidativo, o excesso de peróxido de hidrogênio resulta em deficiência de Nrf2 implicando na diferenciação de osteoclastos e reabsorção óssea (HYEON et al., 2013).

Os diferentes tipos de exercício influenciam a produção RL sendo as variáveis como intensidade, volume e carga as principais responsáveis por esse efeito. Em humanos Demice e colaboradores (2010) observaram que uma sessão aguda de treinamento intervalado de alta intensidade em indivíduos treinados resultou em aumento na concentração de marcadores do dano oxidativo e muscular. Em outro estudo, Marin e colaboradores (2013) evidenciaram que mulheres atletas de uma equipe de handebol, em períodos de aumento da carga de treinamento e volume de competições aumentaram as concentrações de MDA, creatina quinase (CK) e redução dos níveis de GSH. Corroborando esses achados foi observado a relação positiva entre carga e volume de treinamento durante uma temporada e marcadores de estresse oxidativo (VARAMENTI et al. 2013).

Dessa maneira, se faz necessário a utilização de estratégias como a utilização de antioxidantes a fim de prevenir e reverter o estresse oxidativo e suas condições clínicas associadas, Lewis e colaboradores (2017) sugere essa estratégia para prevenir e reverter OT em atletas.

2.3 Sistemas de defesa antioxidante

2.3.1 Antioxidantes endógenos

Por definição antioxidante é qualquer substância que atrase, previna ou remova o dano oxidativo de uma molécula-alvo (HALLIWELL, 2014). O sistema de defesa antioxidante divide-se em enzimático e não-enzimático. Os antioxidantes não enzimáticos, em grande parte, são obtidos de fontes dietéticas dentre eles destacam-se polifenóis, vitamina C, E (α -tocoferol), carotenoides, compostos organosulfurados, minerais e cofatores que tem importante participação na manutenção da saúde humana (RATNAM et al., 2006). Os antioxidantes enzimáticos são produzidos endogenamente e, nesta classe, incluem-se as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), glutathione S-transferase (GST), γ -glutamylcysteine synthetase (GCS) e glutathione reductase (GR) (CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU; MUZYKANTOV, 2006).

A enzima superóxido dismutase é uma metaloenzima que protege as moléculas alvo do ataque do ânion superóxido, sendo a primeira e mais importante enzima do sistema de defesa enzimático, estando presente essencialmente em todas as células do corpo. Atualmente, existem três isoformas: a citoplasmática, Cu/ZnSOD (SOD1), a mitocondrial, MnSOD (SOD2) e a extracelular, Cu/Zn (SOD3) (PERRY et al., 2010), atuando na dismutação do ânion superóxido. Outra enzima fundamental no sistema de defesa antioxidante é a Catalase, localizada principalmente nos peroxissomos, como também nas mitocôndrias e nos núcleos, promovendo a conversão de peróxido de hidrogênio à água e oxigênio molecular, sendo de grande importância, uma vez que impede a formação do radical hidroxil que é muito prejudicial. A catalase apresenta a mais alta taxa de rotatividade entre todas as enzimas, sendo que uma molécula de catalase pode converter, aproximadamente 6 milhões de moléculas de peróxido de hidrogênio por minuto (VALKO et al., 2007).

A glutathione é um tripeptídeo composto pelos aminoácidos L-glutamato, L-cisteína e glicina. É o tiol não proteico mais abundante nas células dos mamíferos, com função antioxidante, atuando como co-substrato na detoxificação de peróxido numa reação catalisada pelas enzimas glutathione peroxidase e glutathione transferase

(KALININA et al., 2014). Sua capacidade redutora é determinada pelo grupamento sulfidríla (-SH), presente na cisteína. O fígado sintetiza glutathione e a sua forma exógena pode ser absorvida no intestino, além disso, ela pode ser ressintetizada, sendo então um antioxidante exógeno e endógeno (FANG et al., 2002).

As glutathione peroxidases (GPx) são uma família de enzimas que incluem três enzimas dependentes de selênio e uma peroxidase independente desse elemento, divididas em dois grupos, celulares e extracelulares. A glutathione peroxidase reduz o peróxido de hidrogênio à água, tornando-a oxidada. A redução da forma oxidada da glutathione (GSSG) é catalisada pela glutathione redutase (GR). Esta enzima não neutraliza os radicais livres diretamente, entretanto, é responsável pela regeneração da glutathione na presença de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), tendo como objetivo impedir a paralisação do ciclo metabólico da glutathione (ROBACZEWSKA et al., 2016).

As células musculares esqueléticas possuem alta capacidade antioxidante devido à grande quantidade de enzimas que reduzem os efeitos dos EROs os quais são dose dependentes, ou seja, em altos níveis, desenvolvem toxicidade na célula e exercem mudança na expressão gênica, podendo reduzir a massa magra via degradação das proteínas musculares. Múltiplos antioxidantes enzimáticos (SOD, GPx e coenzima Q₁₀) e antioxidantes não enzimáticos (vitamina C, E e polifenóis) protegem a membrana e outras organelas do dano oxidativo e muscular causado pelo exercício (ASKARI et al., 2013; HALLIWELL 2014). A vitamina C é um dos suplementos antioxidantes mais pesquisados sobre seu efeito contra o dano oxidativo no coração e músculo esquelético causado pelo exercício (FREI et al., 2012), entretanto, em doses elevadas parece exercer efeito pró-oxidante, reduzindo a biogênese mitocondrial e os benefícios causados pelo treinamento (GOMES et al., 2008).

2.3.2 Antioxidante exógenos

Muitos dos efeitos biológicos relacionados aos antioxidantes parecem serem relacionados não somente a suas habilidades de neutralizarem os radicais livres, mas também por modularem as vias de sinalização celular, dessa forma, os antioxidantes podem regular o ciclo celular normal, inibindo a proliferação celular e invasão de

células tumorais, angiogenese e o processo inflamatório, induzindo a apoptose e estimulando a atividade de enzimas detoxificantes de fase 2, atuando assim na prevenção de patologias como o câncer. (MATES et al., 1999; VALKO et al., 2007).

D'Antona (2013) sugere que indivíduos destreinados ou fisicamente ativos são mais beneficiados pela suplementação de antioxidantes, enquanto indivíduos altamente treinados, cujo apresentam um sistema de defesa antioxidante endógeno mais adaptado, relacionado aos efeitos secundários a exposição elevada de RL. No entanto, sujeitos submetidos a uma sobrecarga de treinamento apresentam déficits de antioxidantes endógenos, essa deficiência devido ou a sobrecarga de treinamento ou pela menor ingestão de antioxidante, faz com que a suplementação de antioxidante seja necessária para melhoria do sistema antioxidante (MARGARITIS; ROUSSEU, 2008). Atualmente é observado que a ingestão de vitaminas e compostos fenólicos influencia positivamente a capacidade antioxidante de indivíduos melhorando o estado redox e suas implicações na saúde humana (KOCHLIK et al., 2017)

A vitamina E é considerado o principal antioxidante lipossolúvel, estando presente em membranas celulares, sistemas de membranas e lipoproteínas plasmáticas, atuando transferindo elétrons do hidrogênio fenólico para os radicais O_2^\bullet e OH^\bullet impedindo a peroxidação lipídica (Azzi, 2017). A vitamina C é um importante antioxidante citosólico, agindo na interrupção da propagação do processo peroxidativo e na eliminação de produto de peroxidação genóticos, participa da vitamina E, regenerando o α -tocoferol, sua ação antioxidante se dar por meio de doação de átomos de hidrogênio de grupos hidroxilas ligados a seu anel benzeno (SOWELL et al., 2004; BRADSHAW et al., 2011). Ryan e colaboradores (2010) demonstraram que o uso crônico e associado de vitamina C e Vitamina E foram eficazes em reduzir a peroxidação lipídica e o conteúdo de espécies reativas no musculo de ratos, relacionados ao exercício e envelhecimento, no entanto, Morrison e colaboradores (2015) observaram que o uso combinado dessas vitaminas não foi eficaz em reduzir o estresse oxidativo ou melhora a adaptação relacionada a capacidade antioxidante no musculo de indivíduos saudáveis. As bastantes controvérsias entre os resultados na literatura, deve-se aos diferentes tipos de biomarcadores utilizados e metodologias empregadas a respeito da dose, tempo de intervenção e objeto de estudo (NIKOLAIDIS et al., 2012).

Os compostos polifenólicos são compostos hidrossolúveis produzidos através

do metabolismo secundário das plantas, frequentemente encontrados unidos aos glicosídeos, podendo eventualmente aparecerem em plantas como agliconas (BRAVO, 1998). São divididos em diferentes grupos de acordo com a quantidade de anéis fenólicos contido em sua estrutura e por quais elementos estruturais eles estão ligados dentre eles são classificados os flavonoides, estilbenos, ácidos fenólicos, taninos hidrolisáveis e curcuminoides (SUREDA et al., 2014). A ingestão diária de polifenóis na forma de sucos de frutas enriquecidos, frutas frescas, vegetais ou seus extratos secos, como também em forma de capsula de fitoquímicos isolados demonstram modular positivamente os sintomas relacionados ao dano muscular induzido pelo exercício como redução do estresse oxidativo e marcadores de dano muscular (PANZA et al., 2015).

2.3.3 Flavonoides

Dentre os polifenóis, os flavonoides são os mais abundantes em nossa dieta. Sua biodisponibilidade depende da forma em eles são encontrados nos alimentos, geralmente os flavonoides são apresentam-se na natureza na sua forma ligado aos glicosídeos, dessa forma essas moléculas são facilmente hidrolisadas na boca e no intestino pela ação da enzima β -glicosidase, tornando-se assim moléculas agliconas, onde por difusão atravessam as membranas dos eritrócitos, sendo então absorvidos no intestino, os flavonoides agliconas são melhores absorvidos do que sua forma encontrada nos alimentos (MALAGUTI et al., 2013). Em relação a sua estrutura, eles são compostos derivados de benzo- γ -pirona, constituem-se em 15 carbonos distribuídos em 2 anéis aromáticos, os benzenos (A e B) e um pirona (cadeia heterocíclica C) acoplada ao anel A (figura 4) (DI CARLO et al., 1999). Os flavonoides diferem-se pelo arranjo dos seus grupos laterais hidroxila, metoxila e glicosídios, e na conjugação entre os anéis A e B. O número de hidroxilas influencia diretamente no mecanismo de ação antioxidante, a hidroxila ligada ao anel B é mais significativa na limpeza de redução de EROS (HEIM et al., 2002).

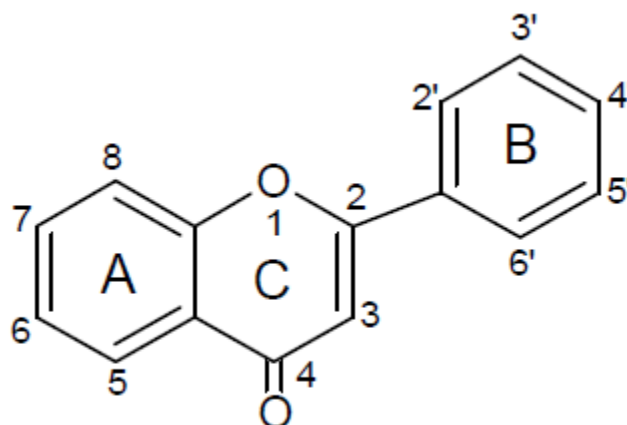
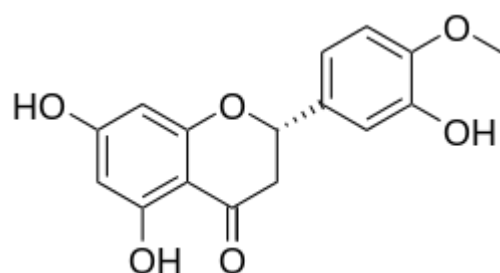


Figura 4. Estrutura básica dos flavonoides.

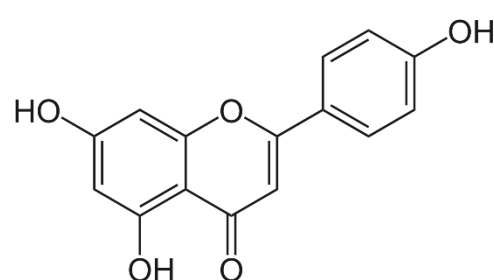
Os flavonoides são subdivididos em seis grandes subclasses baseado na variação do anel heterocíclico C, incluindo: flavononas (hesperetina), flavonas (apigenina), flavonóis (quercetina), antocianidinas ou antocianinas (cianidina), isoflavonas (genisteína) e catequinas (epicatequina) (figura 5). Esses compostos podem ser encontrados nos alimentos de origem vegetal como cebola, uva e maçã (MANACH et al., 2004). Markovick e colaboradores (2012) demonstraram que a relação atividade antioxidante em função da estrutura dos flavonoides dependem necessariamente das OH ligadas ao anel B, de tal modo, que esses grupos funcionais apresentam capacidade de quelar metais e doa elétrons para RL, podendo dessa forma neutraliza-los em sistemas biológicos.

(A)



Hesperetina

(B)



Apigenina

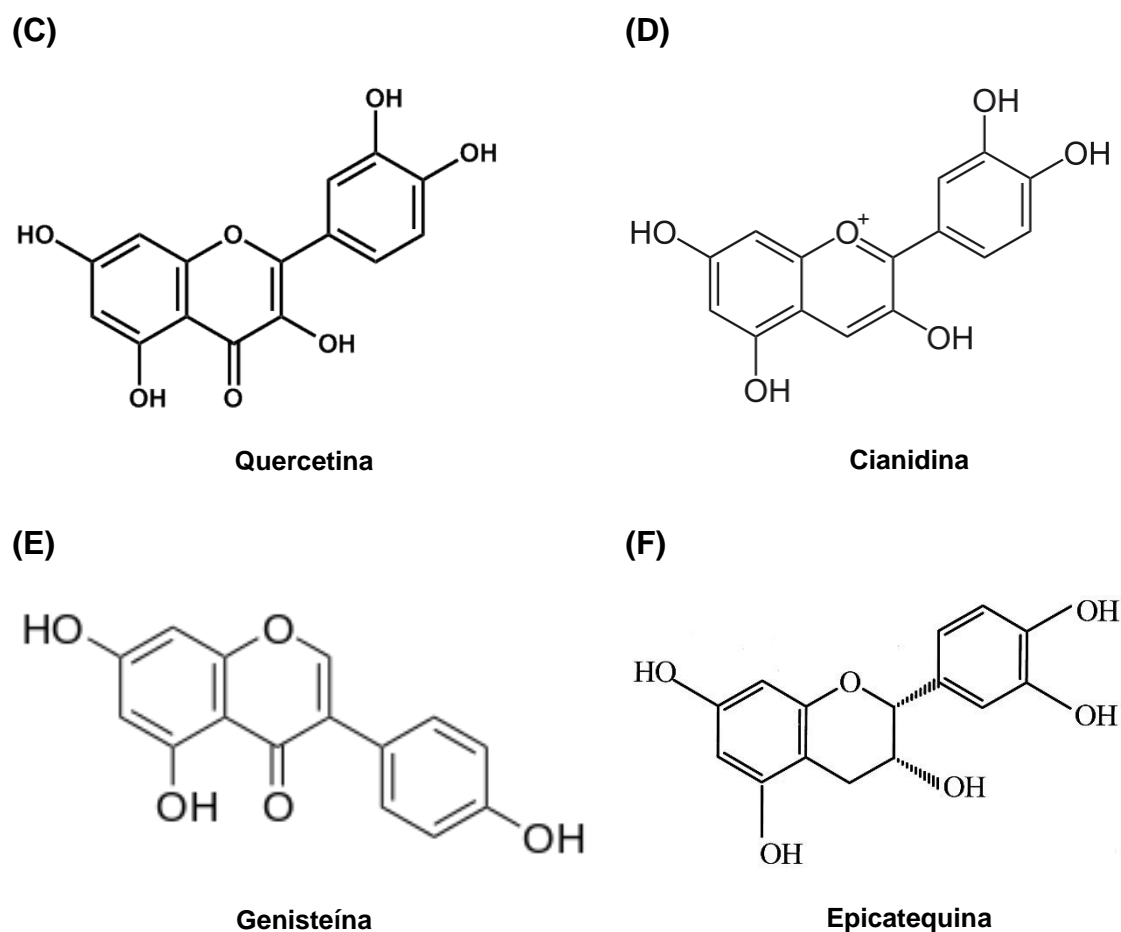


Figura 5. Subclasses de flavonoides. (A) flavononas, (B) flavonas, (C) flavonóis, (D) antocianidinas ou antocianinas, (E) isoflavonas e (F) catequinas.

No organismo, os flavonoides podem atuar indiretamente reduzindo o estresse oxidativo através da indução da produção de glutathione S-transferase (GST) que catalisa as reações de agentes alquilantes como xenobióticos com o grupamento SH da glutathione e, dessa maneira, neutraliza seus sítios eletrofílicos transformando-os em produtos mais hidrossolúveis, facilitando assim sua excreção (FIANDER et al., 2000). Além disso, os flavonoides também podem atuar diretamente em proteínas e fosfolípidos de membrana, ativando vias de sinalização celulares e fatores de transcrição que induzem a biogênese mitocondrial (KIM et al., 2014). Davis e colaboradores (2010) demonstraram que a suplementação durante 7 dias com quercetina foi eficaz em aumentar a expressão gênica de PGC-1 α , fator de transcrição relacionado ao aumento da biogênese mitocondrial no músculo e no cérebro de camundongos. De acordo com Mcanulty e colaboradores (2004) o consumo contínuo

por 7 dias do fruto do *Vaccinium myrtillus* (mirtilo), em quantidades equivalentes da vitamina C, pelo método de avaliação da capacidade de absorção do radical oxigênio, foi mais eficiente em reduzir a concentração do radical Hidroperóxido (ROOH) pós exercício quando comparado com a vitamina C. O consumo de *Camelia sinensis* (chá verde) em forma de infusão (10 mg de folhas secas em 200ml de água quente 3x/dia) é capaz de atenuar os marcadores de estresse oxidativo e dano muscular logo após sessão única de exercício resistido, associado a maiores concentrações plasmáticas de catequinas (PANZA et al., 2008), dessa forma sugere-se que a ingestão de fitoquímicos em forma de extrato ou alimento *in natura* atua como antioxidante devido ao aumento dos níveis plasmáticos de compostos fenólicos, em específico os flavonoides, podendo assim, os produtos naturais serem utilizados como estratégia para atenuar os efeitos dos radicais livres gerados pelo exercício e ou condições clínicas associadas ao estresse oxidativo.

2.4 *Syzygium cumini* (L.) skeels

Syzygium cumini (L.) skeels é uma espécie vegetal popularmente conhecida como Jambolão ou Jamelão (figura 6). Pertence à família *Myrtaceae*, sendo também reconhecida como sinônimos, *Eugenia jambolana*, *Syzygium jambolanum*, *Myrtus cumini* e *Eugenia cumini*. É uma espécie originária das regiões dos trópicos, em países como Índia, Tailândia, Filipinas e Madagascar. Mede cerca de 10 metros de altura e 3 a 4,5 metros de diâmetro de projeção da copa. Suas folhas geralmente são no formato ovado-oblongo com 6 a 12 centímetros de comprimento; seu fruto é do tipo baga, medindo 1,5 a 3,5 centímetros de comprimento, coloração roxo escuro ou quase preto, carnudo e comestível contendo uma única semente grande (Figura 3) (MAZZANTI et al., 2003; MIGLIATO et al., 2011; AYYANAR et al., 2012).

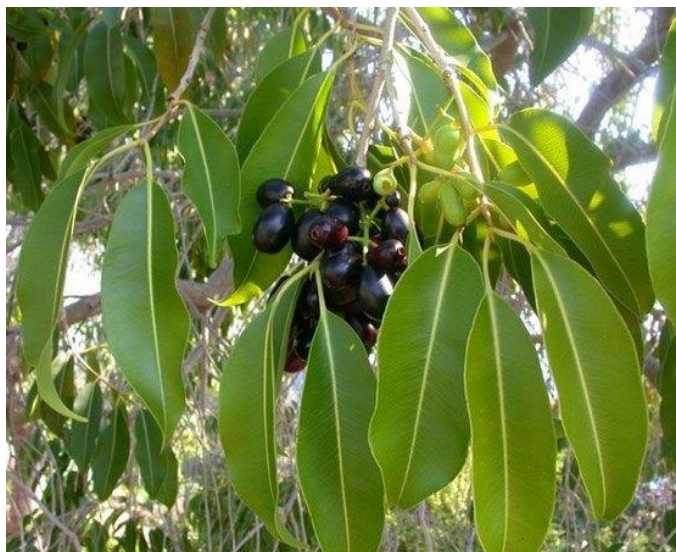


Figura 6. Folhas e frutos da *Syzygium cumini* (L.) skeels.

No que se refere a seus constituintes fitoquímicos, o fruto do jambolão é rico em compostos fenólicos contendo antocianinas, glicosídeos, ácido elágico, isoquercetina, kaempferol e miricetina (AYYANAR *et al.*, 2012). As frutas são caracterizadas por conterem majoritariamente ácido málico com traços de ácido oxálico, ácido gálico e taninos, este último conferindo sabor adstringente à fruta, a cor roxa é devido a presença de cianidina-diglicosídeo (SRIVASTAVA *et al.*, 2013). Além disso é demonstrada também a existência de monoterpenos e sesquiterpenos, tais como, α -cadinol principalmente, seguido por α -pineno e mirceno, entre outros, presentes no óleo essencial da polpa da fruta verde (NISHANDHINI *et al.*, 2014). No que diz respeito à atividade biológica do fruto, Madhu e colaboradores (2015) observaram em seu estudo que o extrato etanólico do fruto da *Syzygium Cumini* apresenta atividade antifúngica superior ao extrato aquoso feito com o mesmo fruto; também é observado efeito antioxidante (BENHERLAL *et al.*, 2007), antidiabético (TANWAR *et al.*, 2016) e anticâncer (GOYAL *et al.*, 2010).

As sementes do jambolão apresentam flavonoides como rutina e quercetina, taninos, ácido elágico e o glicosídeo jamboline bem como grandes quantidades de proteínas e cálcio (ABHISHEK *et al.*, 2011). Atale e colaboradores (2013) encontraram 39 constituintes bioativos nos extratos metanólico e etanólico das sementes, entre eles cariofileno, germacreno, tujanol, ácido hexadecanóico, óxido limoneno, entre outros, compostos comuns a ambos os extratos. Taninos hidrolisáveis isolados a partir da semente demonstraram maior potencial de inibição da enzima α -glicosidase quando comparado com acarbose, medicamento utilizado para diabetes mellitus

(OMAR et al., 2012). Extratos ricos em flavonoides como a fração acetato de etila da semente da *S. Cumini* são caracterizados pelos seus efeitos hipoglicemiante, hipolipidêmico e antioxidante (SHARMA et al., 2008; CHATTERJEE et al., 2012) embora esses efeitos também tenham sido evidenciados em outra fração contendo ácido graxo saturado, Δ^5 lipídio e esterol (SHARMA et al., 2011).

Em suas folhas é confirmada a presença de compostos polifenólicos tais como catequina, rutina, miricitrina, miricetina, ácido elágico e quercetina, e efeitos biológicos como antioxidante e anti-inflamatório (TIMBOLA et al., 2002; HOSSAIN et al., 2016), antinociceptivo (QUINTANS et al., 2014), hipoglicemiante, (SCHOENFELDER et al., 2010). SAROJ e colaboradores (2016) identificaram no óleo essencial obtido a partir da folha, majoritariamente monoterpenos (α -pineno, β -pineno e (Z)- β -ocimeno como principais) e, em seguida, sesquiterpenos, sendo o δ -cadineno majoritário.

Rezende e colaboradores (2013) observaram em seu estudo, a variabilidade química dos constituintes do óleo essencial de suas folhas e sua relação com a presença de determinados nutrientes encontrados no solo, sugerindo assim a hipótese de que fatores ambientais podem influenciar na composição do óleo essencial. Da mesma forma, foi demonstrada variações nas concentrações dos constituintes quando os óleos essenciais das folhas de plantas de origens diferentes foram comparados. O óleo essencial das folhas de *S. Cumini* de origem brasileira demonstrou conter a presença quase exclusiva de monoterpenos, apresentando α -pineno, (Z)- β -ocimeno e (E)- β -ocimeno respectivamente como os principais compostos (DIAS et al., 2013) enquanto que o óleo essencial da mesma espécie porém de origem egípcia revelou α -pineno, α -terpineol e β -pineno como seus constituintes majoritários (BADAWAY et al., 2014). Taninos hidrolisáveis, flavonoides, esteroides e triterpenos estão presentes na casca do caule (BALIGA et al., 2011) a qual demonstrou atividades antifúngicas (JABEEN et al., 2010) e antioxidante (KSHIRSAGAR et al., 2009).

A *S. Cumini* é uma espécie muito bem adaptada ao clima e vegetação na América do Sul e em especial nos estados da região norte, nordeste e nas regiões quente do sudeste (MELO et al., 2009), sendo tradicionalmente utilizada pela medicina popular como hipoglicemiante, anti-inflamatórios e outros fins. Embora na literatura tenha sido evidenciado bastante sobre seu perfil químico e os efeitos biológicos do extrato de órgãos vegetais distintos (folha, fruto e semente), ainda é escasso

evidências sobre a atividade biológica e perfil químico da entrecasca. No entanto em estudo realizado em nosso laboratório, Moreira (2014) evidenciou que o extrato hidroetanólico da entrecasca possui quantidade superior de compostos fenólicos e flavonoides em relação ao mesmo tipo de extrato da folha, de forma que a entrecasca apresentou melhor potencial antioxidante *in vitro*.

Sabendo que o aumento da produção de RL pelo exercício de alta intensidade e maior carga de treinamento, está diretamente relacionado com os valores elevados dos marcadores de dano muscular, imunodepressão e diminuição da performance física de indivíduos treinados e atletas de elites. Estratégias nutricionais vêm sendo estudadas a fim de prevenir e tratar essas complicações associadas. De modo que a suplementação com antioxidantes é demonstrada ser capaz de propiciar adaptações moleculares que implicam diretamente na saúde e bem estar desses indivíduos. Desse modo, o uso do extrato hidroetanólico da entrecasca da *S. Cumini* demonstra ser uma alternativa viável e próspera, pelo seu potencial antioxidante, conteúdo de compostos fenólicos e facilidade na obtenção do material vegetal, por se tratar de uma planta bem adaptada e vasta em nossa região e a extração da entrecasca não depender da sazonalidade.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral:

Avaliar o efeito redox do extrato hidroetanólico da entrecasca da *Syzygium cumini* (L.) skeels no dano oxidativo gerado pelo treinamento intervalado de alta intensidade.

3.2 Objetivos Específicos:

- Determinar o teor de fenóis totais e flavonoides totais do extrato hidroetanólico da entrecasca de *S. Cumini* (L.) skeels;
- Determinar a atividade antioxidante do extrato hidroetanólico da entrecasca da *S. Cumini* (L.) skeels *in vitro*;
- Determinar o efeito do treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT) de curto prazo em animais nos marcadores de dano oxidativo em diferentes tecidos (sanguíneo, muscular (gastrocnêmio), hepático e cardíaco);
- Avaliar o efeito do tratamento com o extrato hidroetanólico da entrecasca da *S. Cumini* (L.) skeels sobre os marcadores de dano oxidativo em diferentes tecidos (sanguíneo, muscular, hepático e cardíaco) em animais submetidos ao HIIT;

4. MATERIAIS E METODOS

4.1 Coleta do material vegetal

O material vegetal (entrecasca) foi coletado na cidade de São Cristovão, 10° 55.154'S; 37° 2.795'O, Sergipe. Esta cidade é situada no leste sergipano apresenta o clima subúmido, encontra-se a 40 metros de altura e seu bioma é predominantemente vegetação litorânea com resíduos de mata atlântica e cerrado.

4.2 Preparação do extrato bruto vegetal

A entrecasca da planta *S. Cumini* foi submetida à secagem em estufa de circulação de ar a 40°C durante sete dias, posteriormente triturada em moinho de facas e reduzida a pó. O pó da casca foi macerado em solvente extrator etanol (98% v/v), à temperatura ambiente, por três extrações sucessivas, em intervalos de 10 dias (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998). O extrato foi filtrado a vácuo e, posteriormente, concentrado em evaporador rotatório (LS Logen Scientific, Lagos, Nigeria) sob pressão reduzida, à temperatura máxima de 50°C. O extrato bruto seco (extrato hidroetanólico - EHE) foi armazenado em frasco de vidro e conservado ultrafreezer a -37°C.

5.3 Testes fitoquímicos quantitativos

5.3.1 Determinação de fenóis totais

O teor de fenóis totais foi determinado por meio de espectroscopia UV utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia descrita por Chaves e colaboradores (2007). Para isso, o EHE foi preparado na concentração de 1 mg/mL de metanol de onde tomou-se uma alíquota de 100 µL e adicionou-se a 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 6 mL de água destilada, agitando-se a mistura por 1 min. Em seguida, 2 mL de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 15% foram adicionados a mistura e agitada novamente por 30 seg, o volume reacional foi completado com mais 5 mL de água destilada. A absorbância das amostras foi medida após 2 horas,

em cubetas de vidro, a 750 nm, contra o branco constituído de todos os reagentes menos o extrato. Para determinar o teor de fenóis foi feito a interpolação da absorbância da amostra contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (10 a 200 µg/mL) e expresso como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por g de extrato. Todas as análises foram realizadas em triplicata com três repetições e os resultados expressos como valores médios e desvio padrão (DP).

5.3.2 Determinação de flavonoides

Para determinar os flavonoides totais no EHE da *S. Cumini* foi utilizado o método de Mbaebie e colaboradores (2012), caracterizado pela formação de um complexo flavonoide-alumínio. Um volume de 0,5 mL da solução etanólica de cloreto de alumínio (AlCl_3) a 2% foi misturado a 0,5 mL de solução metanólica do extrato (1 mg/mL). Essa mistura foi incubada por 1 h para o desenvolvimento de coloração amarelada indicando a presença de flavonoides. A absorbância foi mensurada a 420 nm usando espectrofotômetro UV-VIS. O conteúdo total de flavonoides foi determinado a partir de uma curva de calibração construída com padrão quercetina e expresso como µg de EQ (equivalente de quercetina) por mg de extrato. Todas as análises foram realizadas em triplicata com três repetições e os resultados expressos como valores médios \pm DP.

5.4 Atividade antioxidante *in vitro*

5.4.1 Capacidade Sequestradora do radical DPPH•

A avaliação da atividade antioxidante do EHE foi realizada segundo a metodologia descrita por Soler-Rivas e colaboradores (2000). Nesta metodologia, os parâmetros da atividade antioxidante foram determinados pela reação do radical estável 2,2-difenil-1-picrilidrazina (DPPH•) em solução metanólica com os controles (positivo e negativo) e o extrato, através do monitoramento do decréscimo da absorbância do radical (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995) em espectrofotômetro UV-VIS (Biospectro modelo SP22).

Assim, 50 mL de solução estoque de DPPH• em metanol na concentração de

40 µg/mL foi preparada, mantida sob refrigeração e protegida da luz. Em seguida, o EHE foi solubilizado em metanol obtendo uma solução estoque de 500 µg/mL, a partir de então alíquotas foram retiradas e realizadas diluições para obter concentrações finais de 30, 50, 80, 100, 120 e 150 µg/mL que foram adicionadas a soluções de DPPH• perfazendo um volume reacional de 3 mL.

A leitura das absorbâncias utilizadas para a construção da curva de calibração do DPPH• foi realizada a 515 nm, medidas em cubetas de vidro com percurso óptico de 1 cm, sendo que como branco foram utilizados metanol e EHE e como controle positivo o ácido gálico. As medidas de absorbância foram efetuadas em triplicata nos tempos de 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 min (CHAVES et al., 2007).

A partir dos valores de absorbância e da equação da curva de calibração, no tempo de 60 min para cada concentração testada, foi determinada a porcentagem de DPPH• remanescente, calculado de acordo com a equação de Brand-Williams e colaboradores (1995):

$$\%DPPH_{REM} = [DPPH]_T / [DPPH]_{T0} \times 100$$

Em que $[DPPH]_T$ é a concentração do radical no meio reacional após a reação com a fração e $[DPPH]_{T0}$ é a concentração inicial de DPPH.

Os parâmetros para expressar a atividade antioxidante foram: a concentração efetiva de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial do radical DPPH em 50% (CE_{50}), o percentual de inibição (PI) e o índice de atividade antioxidante (IAA).

A CE_{50} foi calculada através do $\%DPPH_{REM}$ no tempo de 60 min, contrastando com as concentrações das amostras (CHAVES et al., 2007) sendo expressa em µg/mL \pm DP.

O PI foi obtido pela conversão das absorbâncias do EHE na concentração de 30 µg/mL no tempo de 60 min.

O IAA foi determinado conforme Scherer e Godoy (2009), pela equação:

$$IAA = \%DPPH \cdot REM (\mu g/mL) / CE_{50} (\mu g/mL)$$

5.4.2 Avaliação da atividade redox TBARs *in vitro*

A capacidade do EHE de inibir a lipoperoxidação foi determinada através do monitoramento da produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs), como o malondialdeído (MDA) gerado em meio rico em lipídio, a quantificação de TBARs foi realizada de acordo com o protocolo descrito Budni et al. (2007).

Inicialmente, uma alíquota (1000 µL) de gema de ovo (1% v/v) foi misturada em tampão fosfato 20 mmol/L (pH 7,4) e homogeneizada em ultrassom (10 seg na potência 4), sendo, em seguida, acrescentada a alíquotas de 100 µL de soluções do EHE em diferentes concentrações (50, 100, 150 e 200 µg/mL), preparadas no momento do experimento. A partir de então, foi acrescentado 100 µL da solução de sulfato ferroso (FeSO₄, 0,15 mol/L) para induzir a lipoperoxidação. Em seguida, os tubos de ensaio foram incubados a 37°C por 30 min para possibilitar a ocorrência de indução do dano celular. Depois do período de incubação, 500 µL de ácido tricloacético (TCA a 15%) foram adicionados às misturas para precipitar as proteínas, que foram removidas após a centrifugação a 2000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi recolhido e 500 µL de ácido tiobarbitúrico (TBA a 0,67%) foram adicionados aos tubos de ensaio que, em seguida, foram aquecidos a 95°C durante 60 min. A leitura espectrofotométrica da absorbância foi realizada a 532 nm em bioespectro UV-VIS, modelo SP22. O ensaio foi realizado em triplicata com três repetições. Como controle positivo, o Trolox foi usado nas mesmas concentrações substituindo o EHE e para controle negativo foi utilizado tampão fosfato. Os resultados foram expressos em percentual de inibição e formação de MDA.

5.5 Ensaio Biológico *in vivo*

5.5.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistars com peso entre 250 - 350g, obtidos a partir do biotério setorial do departamento de fisiologia da Universidade Federal de Sergipe – UFS, os quais ficaram aleatoriamente alojados em gaiolas apropriadas sob

temperatura controlada ($22 \pm 3^{\circ}\text{C}$) com ciclo claro/ escuro de 12 h (luzes acesas, 06h00 – 18h00), com livre acesso à alimentação específica para roedores e água de torneira. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFS (protocolo 58/2016).

5.5.2 Grupos experimentais

Os animais foram divididos em 5 grupos ($n=10$):

1. Grupo Controle (GC): composto por animais sedentários, que não receberam tratamento via oral;

2. Grupo Extrato (GEHE): composto por animais sedentários que receberam EHE da entrecasca da *S. Cumini* (200 mg/kg de peso corporal via oral) durante 21 dias e não foram submetidos ao protocolo de treinamento;

3. Grupo Exercitado (GE): composto por animais que foram submetidos ao protocolo de exercício e não receberam o extrato;

4. Grupo Exercitado + Extrato (GE+EHE): composto por animais receberam o EHE da entrecasca da *S. Cumini* (200 mg/kg de peso corporal via oral) durante 21 dias e foram submetidos ao protocolo de treinamento.

5. Grupo Exercitado + Quercetina (GE+Q): composto por animais que receberam quercetina (25 mg/kg de peso corporal via oral – controle positivo) durante 21 dias e foram submetidos ao protocolo de treinamento.

5.5.3 Protocolo de Treinamento Intervalado de Alta Intensidade (HIIT)

Os animais foram submetidos ao exercício de natação, para isto foram utilizados cilindros de PVC preto (120 cm de profundidade e 80 cm de diâmetro) com água na profundidade de 50 cm e temperatura média de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, os pesos foram fixados em um colete localizado no dorso do animal. Para execução do exercício os animais foram colocados individualmente nos cilindros de PVC com água. Os animais foram aclimatados em ambiente aquático com sessões de natação de duração de 20 min sem carga, por 3 vezes, na semana que antecedeu a o início do protocolo de treinamento. O protocolo de HIIT foi de acordo com Terada e colaboradores (2001),

que consistiu de 10 a 14 períodos de natação com duração de 20 seg e intervalos de 10 seg entre cada período, realizado 5 dias por semana durante 3 semanas, sendo a carga inicial de 10% do peso corporal, aumentando 2% da carga semanalmente (figura 5).

Após 24h do término do ensaio biológico, os animais foram anestesiados adequadamente para a coleta de amostras do tecido sanguíneo, muscular (gastrocnêmio), hepático e cardíaco para posteriores análises.

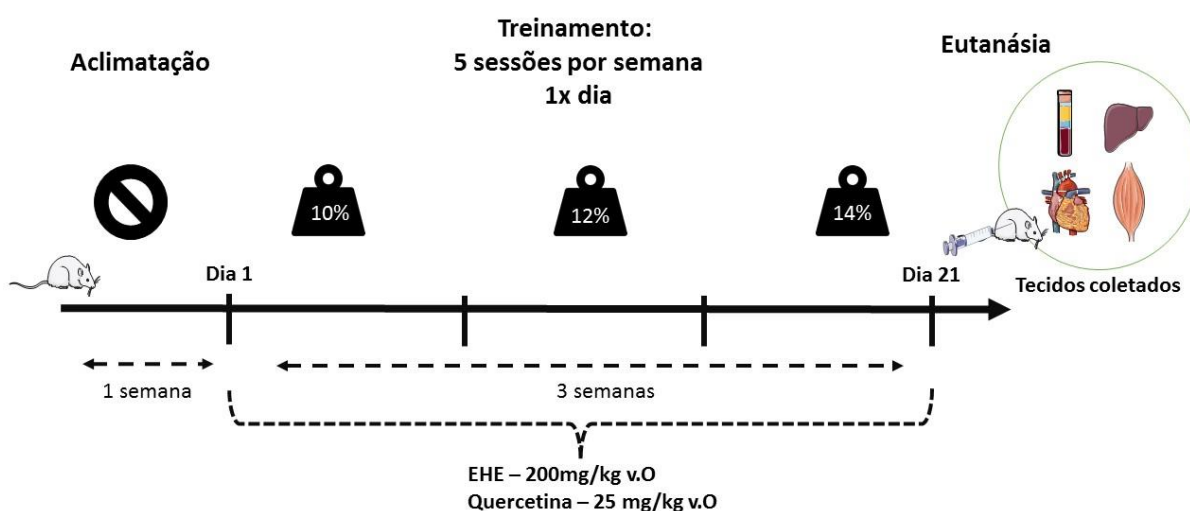


Figura 7. Desenho experimental

5.5.4 Preparo do material biológico

Os animais foram anestesiados com cetamina/xilazina (75mg/kg + 10mg/kg i.p) (FLECKNELL, 2009) e o sangue (± 5 mL) foi coletado através de punção cardíaca e então foram eutanasiados por dessangramento sob anestesia. O sangue, após a coleta, foi imediatamente centrifugado a $4000 \times g$ por 15 min a $\pm 4^\circ\text{C}$ e o sobrenadante armazenado a $\pm -70^\circ\text{C}$. Paralelamente, os órgãos (músculo, fígado e coração) foram removidos e, em seguida, lavados 3 vezes com solução de cloreto de potássio (KCl) 1,15%, secos e pesados. Logo após, foram homogeneizados onde cada grama de tecido foi misturada com 5 mL de KCl + 10 μL de fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF – 100 mmol. L^{-1}) + 15 μL de solução Triton a 10% e centrifugada a $3000 \times g$ por 10 min a $\pm -70^\circ\text{C}$ para análises posteriores dos marcadores de estresse oxidativo.

5.6 Determinação da atividade redox protetora *in vivo*

5.6.1 Determinação de TBARS *in vivo*

A oxidação de lipídios foi determinada pela medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs) de acordo com o método descrito por Lapenna e colaboradores (2001). Alíquotas de 200 µL das amostras (sangue e órgãos) foram adicionadas a uma mistura de 400µL formada por partes iguais de ácido tricloroacético (TCA) 15%, HCl 0,25 N e TBA 0,375%, mais 2,5 mM de butilato de hidroxitolueno (BHT) e 40µL de dodecil sulfato de sódio (SDS) 8,1%, sendo aquecida por 30 min a 95° C em estufa. O pH da mistura foi ajustado para 0,9 com HCl concentrado. BHT foi usado para prevenir a peroxidação lipídica durante o aquecimento. Após resfriamento à temperatura ambiente e adição de 4 mL de butanol, o material foi centrifugado a 800 xg por 15 min a ± 4 °C e a absorbância do sobrenadante foi medida em 532 nm. O coeficiente de extinção molar utilizado foi $1,54 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e o resultado de TBARS expresso em nmol Eq MDA/mL de soro para as amostras de sangue ou em nmol Eq MDA/mL soro para os órgãos.

5.6.2 Determinação de sulfidrilas totais (tióis)

Os grupos sulfidrilas (SH) são estruturas associadas a proteínas e, portanto, susceptíveis a danos oxidativos. Sua quantificação revela o nível antioxidante do tecido. A determinação dos grupos sulfidrilas foi realizada conforme a metodologia descrita por Faure e Lafond (1995) em que alíquotas de 50 µL de amostras (sangue e órgãos) foram misturados em 1 mL de tampão tris-EDTA, pH 8,2. Em seguida, foi realizada a primeira leitura (A) no espectrofotômetro em 412 nm. Após a leitura, as amostras foram transferidas para tubos de ensaio e misturadas a 20 µL de DTNB 10 mM diluído em metanol (4 mg/mL), ficando em repouso no escuro. Ao final de 15 min, a segunda leitura de absorbância (A2) foi realizada. A concentração de SH foi calculada conforme equação: $(A2 - A1) - B \times 1,57 \text{ mM} \times 1000$ sendo o resultado expresso em nmol.mg⁻¹ tecido.

5.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram expressos em média e desvio padrão (DP). Para observar a normalidade dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para avaliar a significância das diferenças entre as médias foram utilizados os testes t de student's e ANOVA de uma ou duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. Os valores foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Para todos estes procedimentos foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, E.U.A.).

6. RESULTADOS

6.1 Testes fitoquímicos

6.1.1 Quantificação de Fenóis Totais

No presente estudo, a quantificação de fenóis totais do EHE mostrou que a entrecasca de *S. Cumini* possui $4,65 \pm 0,14 \mu\text{g}$ EAG/mg de extrato enquanto o teor de flavonoides foi $11,56 \pm 0,02 \mu\text{g}$ de EQ/mg de extrato.

6.2 Atividade antioxidante *in vitro*

6.2.1 Capacidade sequestradora do radical DPPH•

A Tabela 1 ilustra a capacidade sequestradora do radical DPPH por meio dos parâmetros selecionados para esta análise. O percentual de inibição (PI) do EHE em concentração de $30 \mu\text{g/mL}$ apresentou valor de 90,28% comparável ao controle positivo, ácido gálico, cujo PI foi de 93%.

Tabela 1. Atividade antioxidante *in vitro* do EHE da *Syzygium cumini* (L.) Skeels.

Amostras	PI (%)	CE ₅₀ ($\mu\text{g/mL} \pm \text{DP}$)	IAA
EHE	90,28	$13,47 \pm 0,01$	1,04
Ácido gálico	93,00***	$2,90 \pm 0,05$ ***	13,81***

O percentual de inibição (PI) das amostras a ($30 \mu\text{g/mL}$), bem como a concentração eficiente em 50% (CE₅₀) foi calculado no tempo de 60 min. O índice de atividade antioxidante (IAA) foi calculado dividindo o valor da concentração final da amostra pelo CE₅₀ no tempo de 60 min. Diferenças estatísticas foram determinadas pelo Teste t de student's ($p < 0,05$) *** $p < 0,001$ vs EHE.

O IAA para o EHE foi considerado forte já que este índice classifica os antioxidantes **como:** fraco quando $\text{IAA} < 0,5$, moderado quando $0,5 < \text{IAA} < 1,0$, forte, quando $1 > \text{IAA} < 2$ e muito forte quando $\text{IAA} > 2$.

6.2.2 Avaliação da atividade redox TBARs in vitro

O EHE da *S. Cumini* foi eficaz em reduzir a concentração de MDA formado em todas as concentrações testadas ($p < 0,001$) (Figura 4). Dentre elas, a concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$ ($1,10 \pm 0,14$ nmol EqMDA/mL) apresentou maior percentual de inibição, no entanto não foi significativamente maior quando comparado com a dose de 150 $\mu\text{g/mL}$ ($1,42 \pm 0,15$ nmol EqMDA/mL), embora tenha sido significativamente maior que as demais doses menores 50 $\mu\text{g/mL}$ ($1,82 \pm 0,25$ nmol EqMDA/mL) e 100 $\mu\text{g/mL}$ ($1,76 \pm 0,25$ nmol EqMDA/mL) ($p < 0,05$).

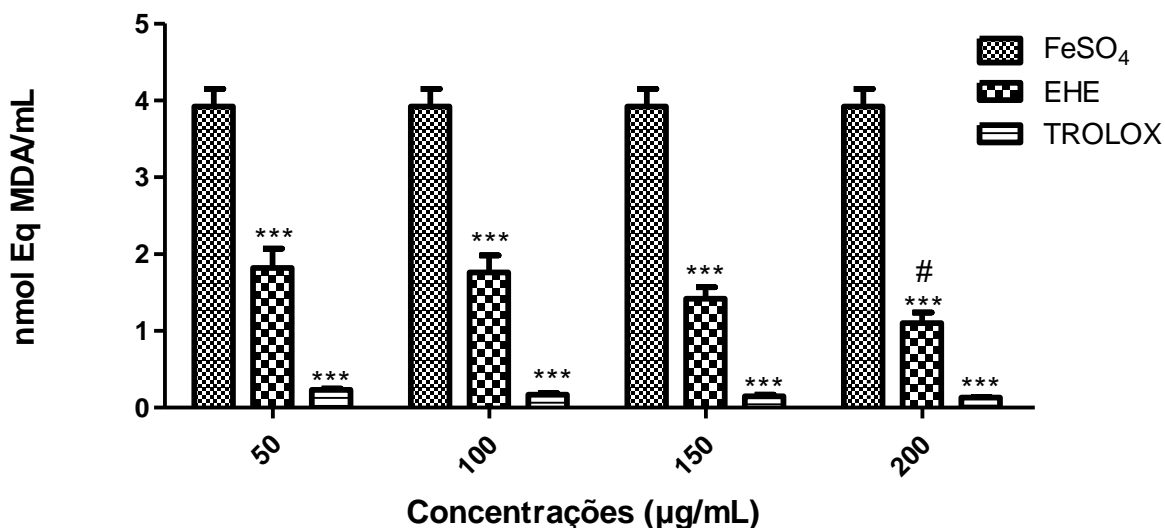


Figura 4. Efeito do extrato hidroetanólico da entrecasca (EHE) de *Syzygium cumini* (L.) skeels sobre formação de MDA induzido por FeSO₄. *** $p < 0,001$ vs FeSO₄, # $p < 0,05$ vs EHE (50 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$). Determinadas pela ANOVA de duas vias seguido do pós-teste e Bonferroni.

6.3 Determinação da atividade redox protetora in vivo

6.3.1 Determinação de TBARs in vivo

O HIIT utilizado no presente estudo mostrou-se eficiente em induzir o dano oxidativo nos animais, foi observado um aumento de 305,6% na produção de MDA nos animais do grupo exercitado (GE) ($14,49 \pm 1,78$ nmol EqMDA/mL) $p < 0,001$, em relação ao grupo controle (GC) ($3,57 \pm 1,33$ nmol EqMDA/mL). O tratamento com EHE (200 mg/kg) nos animais sedentários (GEHE) ($2,05 \pm 0,79$ nmol EqMDA/mL),

demonstrou não induzir a peroxidação lipídica quando comparado ao GC. No entanto, o tratamento com EHE (200 mg/kg) nos animais exercitados (GE+EHE) ($8,16 \pm 0,56$ nmol EqMDA/mL) foi significativamente eficaz na redução do dano oxidativo dos lipídios em 43,6% comparado ao GE ($p < 0,001$). A mesma resposta foi observada nos animais que foram tratados com quercetina (25 mg/kg) (GE+Q) ($7,48 \pm 0,60$ nmol EqMDA/mL) apresentando redução de 48,3% em comparação ao GE ($p < 0,001$) (Figura 8a).

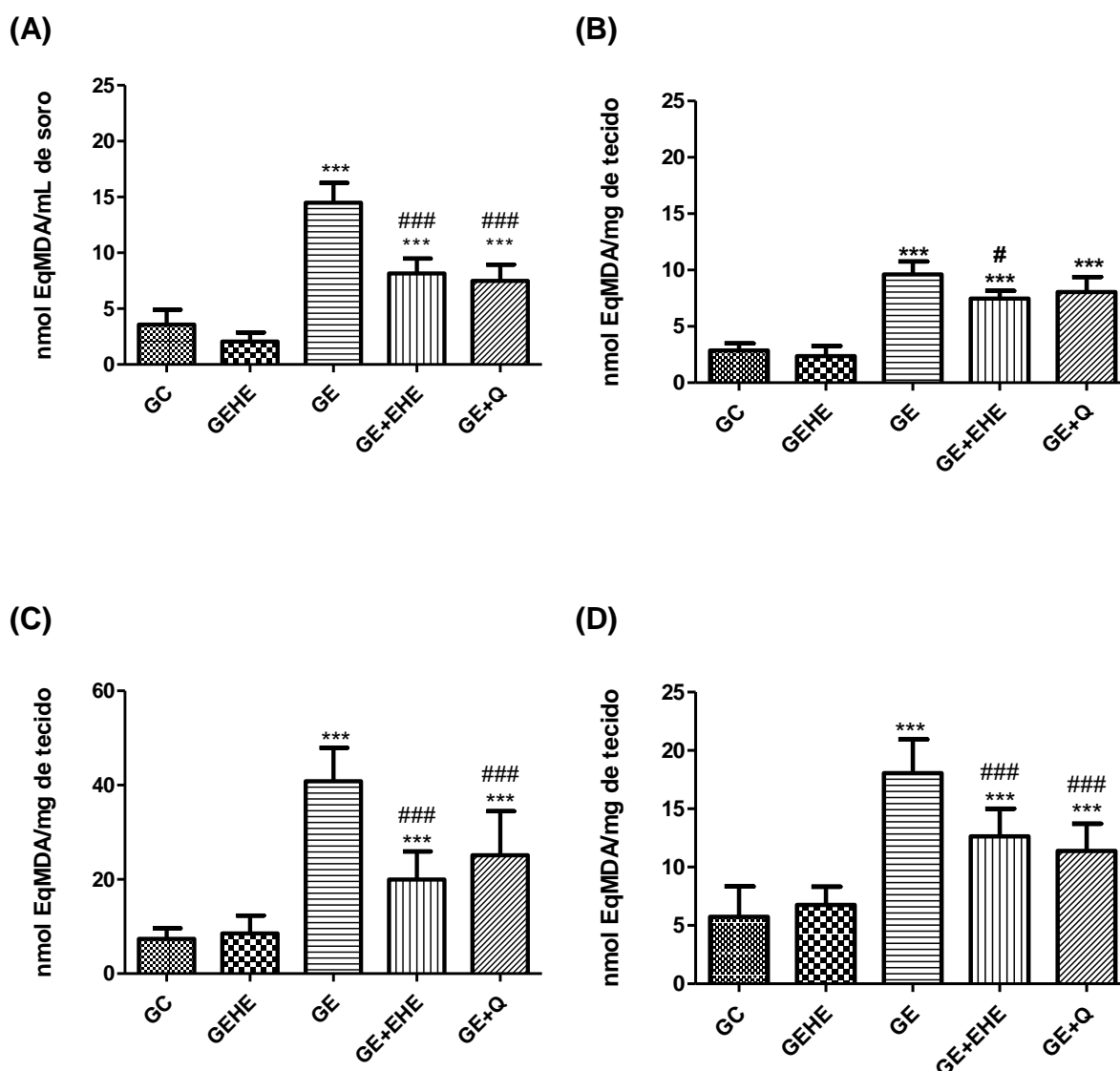


Figura 8. Efeito do consumo do extrato hidroetanólico da entrecasca (EHE) da *Syzygium cumini* (L.) skeels sobre a concentração de malondialdeído (MDA) em tecido sanguíneo (A) tecido muscular (gastrocnemius) (B), tecido hepático (C) e tecido cardíaco (D): GC – grupo controle, GEHE – Grupo Extrato, GE – Exercitado, GE+EHE – Grupo Exercitado + Extrato, GE+Q – Grupo Exercitado + Quercetina, (n=10). *** $p < 0,001$ vs GC, # $p < 0,05$ vs GE. ### $p < 0,001$ vs GE, As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA de uma via com pós teste de Bonferroni.

Quanto ao tecido muscular (gastrocnêmio), observou-se aumento significativo de 259,2% na concentração de MDA nos animais pertencentes ao GE ($9,61 \pm 1,61$ nmol EqMDA/mg) em relação ao GC ($2,85 \pm 0,63$ nmol EqMDA/mg) ($p < 0,001$). No entanto, no GE+EHE ($7,46 \pm 0,69$ nmol EqMDA/mg) a oxidação lipídica foi significativamente menor 26,5% ($p < 0,05$) quando comparado a GE. O tratamento com quercetina preveniu em 16,23 % a peroxidação lipídica GE+Q ($8,05 \pm 1,34$ nmol EqMDA/mg) no entanto, essa redução não significativa estatisticamente. Paralelamente, no tecido hepático, o HIIT aumentou significativamente em 452,6% a lipoperoxidação GE ($40,85 \pm 7,05$ nmol EqMDA/mg) ($p < 0,001$), enquanto o tratamento dos animais com EHE da *S. Cumini* foi significativo em atenuar o dano oxidativo de lipídios em 51,2% GE + EHE ($19,97 \pm 5,95$ nmol EqMDA/mg) em relação ao GE ($p < 0,001$). Quanto ao GE+Q ($25,14 \pm 9,33$ nmol EqMDA/mg) observamos uma redução significativa de 38,41% comparado a GE ($p < 0,001$). Não houve diferença significativa entre GC ($7,40 \pm 2,32$ nmol EqMDA/mg) e GEHE ($8,53 \pm 3,77$ nmol EqMDA/mg) (Figura 8c).

Referente ao dano oxidativo em lipídios no tecido cardíaco, o presente estudo demonstrou que o HIIT (GE) ($18,06 \pm 2,88$ nmol EqMDA/mg) foi significativamente eficaz em induzir a lipoperoxidação 215% em relação a GC ($5,73 \pm 2,60$ nmol EqMDA/mg) ($p < 0,001$). Entretanto, a administração do EHE (GE+EHE) ($12,64 \pm 2,37$ nmol EqMDA/mg) conduziu a uma diminuição significativa na concentração de MDA em 30% ($p < 0,001$) enquanto com a quercetina (GE+Q) ($11,38 \pm 2,34$ nmol EqMDA/mg) foi de 37% ambos comparados ao GE ($p < 0,001$) (Figura 8d). Vale ressaltar que ambos os tratamentos citados anteriormente foram estatisticamente iguais.

6.3.2 Determinação de sulfridilas totais

O conteúdo de grupamento sulfidrila avaliado no presente estudo indica indiretamente, o recrutamento do sistema de defesa antioxidante das glutathionas para o tecido testado. Neste sentido, observou-se que o consumo do EHE não alterou de forma significativa o conteúdo de tióis nos animais do GEHE ($247,53 \pm 28,36$ nmol/mL) em relação ao GC ($242,82 \pm 35,85$ nmol/mL) em tecido sanguíneo. No entanto, o sistema foi bastante utilizado nos animais GE ($148,84 \pm 24,66$ nmol/mL), havendo uma redução significativa de 40% ($p < 0,001$), enquanto que os grupos GE+EHE ($237,91 \pm 14,19$ nmol/mL) e GE+Q ($227,48 \pm 25,16$ nmol/mg) preservaram os grupamentos

sulfidrilas em tecido sanguíneo ($p < 0,001$), não houve diferença significativa entre GC e GE+EHE (Figura 9a).

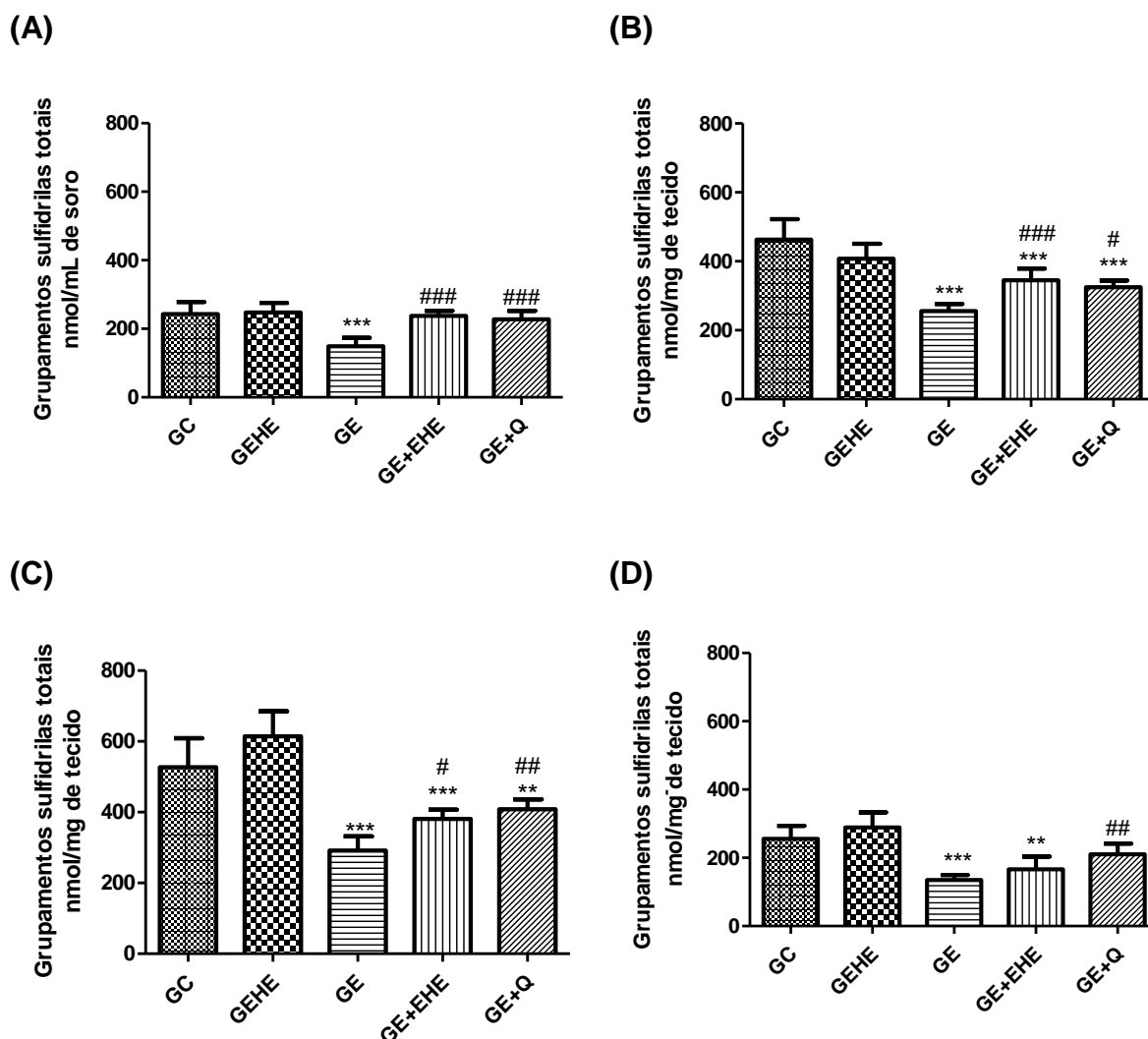


Figura 9. Efeito do consumo do extrato hidroetanólico (EHE) da entrecasca de *Syzygium cumini* (L.) skeels sobre a concentração de grupamentos sulfidrilas no tecido sanguíneo (A), tecido muscular (gastrocnêmio) (B), tecido hepático (C), tecido cardíaco (D): GC – grupo controle, GEHE – Grupo Extrato, GE – Exercitado, GE+EHE – Grupo Exercitado + Extrato, GE+Q – Grupo Exercitado + Quercetina, cada grupo foi composto por 10 animais. ** $p < 0,01$ vs GC, *** $p < 0,001$ vs GC, # $p < 0,05$ vs GE, ## $p < 0,01$ vs GE, ### $p < 0,001$ vs GE. As diferenças estatísticas foram determinadas pela ANOVA de uma via com pós teste de Bonferroni.

No que se refere ao tecido muscular (gastrocnêmio), o GE ($255,75 \pm 20,47$ nmol/mg) demonstrou diminuição de 44,7% dos grupamentos sulfidrilas totais quando comparado ao GC ($462,86 \pm 59,64$ nmol/mg) ($p < 0,001$). Os animais exercitados e tratados com EHE (GE+EHE) ($344,81 \pm 34,52$ nmol/mg) preservou em 34,7% a oxidação dos grupos tióis quando comparado ao GE ($p < 0,001$) (Figura 9b). Enquanto

no tecido hepático, observou-se o consumo de 44,6% do GE ($291,92 \pm 39,66$ nmol/mg) comparado ao GC ($537,07 \pm 82,17$ nmol/mg) ($p < 0,001$) demonstrando a ação do HIIT sobre os grupos tióis, enquanto que o consumo diário tanto do EHE (GE+EHE) ($380,74 \pm 26,27$ nmol/mg) quanto da quercetina (GE+Q) ($408,62 \pm 27,65$ nmol/mg) inibiram significativamente a oxidação dos grupamentos sulfidrilas em 30% ($p < 0,05$) e 40% ($p < 0,001$) respectivamente em relação ao GE (Figura 9c).

No tecido cardíaco, observou-se uma redução significativa de grupamentos sulfidrilas em GE ($134,83 \pm 15,14$ nmol/mg) 47,2% quando comparamos a GC ($255,71 \pm 37,79$ nmol/mg) ($p < 0,001$). O GE+EHE ($166,54 \pm 37,10$) preveniu 23% da oxidação dos grupos tióis, embora não tenha sido estatisticamente significativa essa diferença. Enquanto GE+Q ($210,36 \pm 31,99$ nmol/mg) foi eficaz significativamente em preservar os grupamentos sulfidrilas 55,7% em relação ao GE ($p < 0,01$) (Figura 9d).

7. DISCUSSÃO

Nosso estudo demonstrou que o tratamento com o extrato hidroetanólico da entrecasca da *S. cumini* reduziu significativamente os marcadores de dano oxidativo em ratos wistar submetidos ao treinamento de natação intervalado de alta intensidade. A *Syzygium cumini* apresenta em sua composição química uma diversidade de constituintes fitoquímicos dentre eles destacam-se os polifenóis (AYYANAR *et al.*, 2012; MOREIRA, 2014; SHARMA *et al.*, 2008). Os compostos polifenólicos são compostos hidrossolúveis produzidos através do metabolismo secundário das plantas, possuem em sua estrutura química hidroxilas ligadas a seus anéis aromáticos. São atribuídas as hidroxilas a atividade antioxidante dos compostos fenólicos (BRAVO, 1998; SUREDA *et al.*, 2014). Os antioxidantes fenólicos mais comuns na natureza são os flavonoides (MANACH *et al.*, 2004).

Deste modo, ao analisarmos o teor de constituintes fenólicos do EHE da *S. Cumini*, encontrados no presente estudo, o EHE demonstra ser 96,2% superior ao observado em estudo realizado com extrato hidroetanólico da folha da mesma espécie (2,37 mg EAG/g) (VERBER *et al.*, 2015). Dessa forma, estes resultados corroboram com o estudo realizado por Moreira (2014), cujo foi demonstrado que o EHE é superior em teor de compostos fenólicos em comparação com o mesmo tipo de extrato da folha. Em relação aos demais órgãos vegetais da mesma espécie os frutos demonstram concentrações menores de fenóis totais ao observado no presente estudo (1,48 mg EAG/g) (FARIA *et al.*, 2011) e (1,85 mg EAG/g) (RUFFINO *et al.*, 2010). No entanto, para os teores fenólicos o extrato metanólico das folhas da *S. Cumini* (610 \pm 9,03 mg EAG/g), demonstrou ser maior ao EHE. A literatura demonstra uma associação direta entre os constituintes fenólicos e uma série de propriedades medicinais, tais como a atividade antioxidante (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

O potencial da ação antioxidante dos compostos fenólicos está relacionado com a quantidade de hidroxilas presente em sua estrutura (HEIM *et al.*, 2002). Dessa forma, esses compostos atuam reduzindo o radical livre o tornando estável após doarem um elétron da hidroxila ligada a sua estrutura para esse radical (MARKOVIC *et al.*, 2012). Foi medida a capacidade antioxidante do EHE da *S. cumini* pela redução do radical DDPH•, um radical livre que produz uma coloração violeta em etanol, que quando associado a uma substância antioxidante ele é reduzido, havendo desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da

absorbância (CHAVES et al., 2007). O EHE da *S. Cumini* apresentou ser superior quando comparado com extrato metanolico da semente da mesma espécie quando comparado o percentual de inibição de ambos frente ao DPPH• (ATALE et al., 2017). O percentual de inibição indica o quanto indica o quanto de radicais livres a substância antioxidante foi capaz de capturar em uma concentração e um determinado tempo.

Em adição, o EHE da *Syzygium cumini* mostrou maior CE₅₀ frente a outros tipos de extrato e frações da mesma espécie (RUAN et al., 2008). A CE₅₀ (Concentração eficiente 50) remete a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração de DPPH• em 50%. Assim, sugerimos que o EHE apresenta maior atividade antioxidante em comparação aos demais extratos de órgãos vegetais diferentes da mesma espécie, por necessitar de menos material vegetal para apresentar uma ação antioxidante semelhante. Esta variação no potencial antioxidante dos diferentes tipos de extrato da mesma espécie, pode estar relacionado aos diferentes métodos de extração, uma vez que, o tipo de método utilizado influencia diretamente na quantidade de compostos fenólicos no extrato, determinando assim, sua atividade antioxidante (SPAGOLLA et al., 2009).

No presente estudo utilizamos o sulfato ferroso como indutor químico da peroxidação de lipídios *in vitro*, a lipoperoxidação catalisada por íons de Fe²⁺, ocorre de modo que, o peróxido lipídico (LOOH) reage com o íon metálico, formando alcóxila (LO•), o radical hidroxila (OH•) e Fe³⁺ (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). O EHE da *Syzygium cumini* demonstrou ser eficaz em todas as concentrações testadas para inibir a peroxidação lipídica induzida por sulfato ferroso. Composto como flavonoides presentes no EHE da *S. Cumini* apresentam propriedades quelantes, capazes de neutralizar os íons de Fe²⁺, pela complexação da hidroxila ligada ao carbono 3 do anel fenólico B do flavonoide com o íon metálico, dessa forma inibindo a reação de fenton, impedindo a peroxidação de lipídios (ARORA et al., 1998; KUMAMOTO et al., 2001; MARKOVIC et al., 2012). Embora os resultados *in vitro* demonstraram um efeito antioxidante promissor do EHE, sua aplicação *in vivo* se faz necessária. Para isso, ratos wistar foram submetidos ao treinamento de natação intervalado de alta intensidade e tratados com EHE, com o objetivo de observar o comportamento dos marcadores de dano oxidativo frente ao tratamento.

O treinamento intervalado de alta intensidade usando a natação foi realizado utilizando uma carga inicial 10% do peso corporal do animal chegando até 14% na

última semana. A intensidade do treinamento foi definida pela carga, o qual a literatura demonstra que cargas acima de 6% do peso corporal do animal na natação é tido como exercício de alta intensidade (CUNHA et al., 2009; GOBATTO et al., 2001). Variações de intensidade, tipo e duração do exercício influencia diretamente na produção de espécies reativas e consequentemente no dano oxidativo causado por ele. Exercícios de alta intensidade demonstram resultar em maior oxidação de lipídios no fígado, músculo e sangue (DOS SANTOS et al., 2014; LAMOU et al., 2016). Durante a atividade contrátil ocorre o aumento intracelular de O_2^\bullet , peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e óxido nítrico (NO), sugere-se que a ação da enzima NADPH oxidase na membrana plasmática, citosol celular e retículo sarcoplasmático no músculo esquelético e cardíaco e também nos túbulos transversos localizados no músculo esquelético seja a principal fonte de produção de RL associada ao exercício físico (POWERS et al., 2011; JACKSON, 2015).

Ratos submetidos ao treinamento de natação de intervalado de alta intensidade demonstraram ter sua produção de H_2O_2 pela mitocôndria após 6 semanas de treinamento (RAMOS-FILHO et al., 2015). Uma vez que, o excesso de H_2O_2 dentro da célula envolve a maior produção do radical OH^\bullet e consequente dano oxidativos irreversíveis a lipídios, DNA e proteínas (SCHIEBER; CHANDEL et al., 2014; PAJARES et al., 2015). Embora utilizamos em nosso estudo foi utilizado um período de treinamento menor, a frequência entre as sessões também foi menor, diminuindo assim o tempo de recuperação entre elas, o que possibilitou um maior estresse nos animais. Contrário à nossa hipótese, Stanovejic e colaboradores (2016) observaram que a diminuição do tempo de recuperação entre as sessões de natação contínua não resultou em estresse oxidativo no tecido cardíaco e sanguíneo de ratos após 12 semanas de treinamento. No entanto, os animais realizaram todo o período de treinamento sem carga adicional e passaram por um período de adaptação de 8 semanas até realização do protocolo de indução ao *overtraining*, que consistiu em 3 semanas. Diferentemente, nossos animais passaram por um período de aclimação, dando início em seguida ao treinamento com carga e havendo progressão da mesma a cada semana.

Quanto aos efeitos do tratamento com EHE da *S. Cumini* em ratos submetidos ao treinamento de natação de alta intensidade, nosso extrato foi eficaz em atenuar a oxidação de lipídios em todos os órgãos avaliados, corroborando com esse efeito

antioxidante, a oxidação dos grupamentos sulfidrilas também foi atenuada no fígado, músculo e sangue desses animais. A peroxidação lipídica é um importante indicador de dano oxidativo, consiste basicamente, na degradação membrana celular por ação dos radicais livres, sendo mensurada pela formação de MDA, através de sua complexação com ácido tiobarbitúrico. A avaliação do dano a lipídios é relacionada positivamente a condições patológicas como doença renal crônica, doença cardiovasculares e diabetes (GARCIA et al., 2012). Os grupamentos sulfidrilas remete a utilização do sistema de defesa antioxidante da glutathione. A molécula de glutathione possui em sua estrutura o grupo tiol responsável por numerosas funções no sistema biológico, tendo maior importância no sistema de defesa antioxidante (FINAUD et al., 2016). Dados da literatura corroboram com nossos resultados sobre o efeito antioxidante do tratamento com extratos da *S. Cumini*. Animais diabéticos tratados com *S. cumini* tiveram redução na concentração de MDA e aumento da concentração de enzimas antioxidantes tais como SOD, CAT e GPx (BALDISSERA et al., 2016; SHARMA et al., 2012).

Quanto ao uso de extratos vegetais para redução do estresse oxidativo, Dos santos e colaboradores (2014) constatou que o tratamento com o extrato hidroetanólico da folha da *Bowdichia virgilioides* reduziu tanto as concentrações de MDA quanto as de CK no tecido muscular e sanguíneo. Embora em nosso estudo não foram avaliados marcadores de dano muscular, a suplementação a partir de fontes de polifenóis demonstra estar associada tanto com a redução do estresse oxidativo, quanto com a diminuição desses marcadores (BELUIRANDI et al., 2012; HERRLINGER et al., 2015). De fato, os flavonoides podem atuar reduzindo o dano oxidativo pela diminuição da atividade da enzima NADPH oxidase, as hidroxilas contidas no anel fenólico B dos flavonoides são capazes de se ligarem ao domínio regulatório C1B da proteína quinase C δ (PKC δ), dessa forma, impedindo a fosforilação do domínio regulatório p47^{phox} da NADPH oxidase, diminuindo a sua atividade (KONGPICHIRCHOKE et al., 2015).

Dessa forma, a suplementação com o extrato da *S. cumini*, pode surgir como possível estratégia para a redução do estresse oxidativo aliado ao exercício, uma vez que, atletas submetidos a maiores cargas de treinamento demonstram elevação nos biomarcadores de estresse oxidativo, dano muscular e diminuição da performance (LEWIS et al., 2015; MARIN et al., 2013; VARAMENTI et al., 2013).

8. CONCLUSÃO

O EHE da *S. Cumini* reduziu os marcadores de dano oxidativo em tecidos de ratos submetidos ao protocolo de treinamento de natação intervalado de alta intensidade durante o período de 3 semanas. Atribuímos esse efeito aos constituintes fenólicos encontrados em sua composição química.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHTIAINEN, J. P.; HULMI, J. J.; LEHTI, M.; KREAMER, W. J.; NYMAN, K.; SELÄNNE, H.; ALEN, M.; KOMULAINEN, J.; KOVANNEN, V.; MERO, A. A.; PHILIPPOU, A.; LAAKKONEN, E. K.; KÄKKINEN, K. Effects of resistance training on expression of IGF-1 splice variants in younger and older men. **European Journal of Sport Science**, v. 16, p. 1055-1063, 2016.

ARORA, A.; NAIR, M. G.; STRASBURG, G. M. Structure-activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 24, p. 1355-1363, 1998.

ASKARI, G.; HAJISHAFIEE, M.; GHIASVAND, R.; HAIRIRI, M.; DARVISHI, L.; GHASSEMI, S.; IRAJ, B.; HOVSEPIAN, V. Quercetin and vitamin C supplementation: effects on lipid profile and muscle damage in male athletes. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 4, p. S58-S62, 2013.

ASTORINO, T. A.; SCHUBERT, M. M.; PALUMBO, E.; STIRLING, D.; MCMILLAN, D. W.; COOPER, C.; GODINEZ, J.; MARTINEZ, D.; GALLANT, R. Magnitude and time course of changes in maximal oxygen uptake in response to distinct regimens of chronic interval training in sedentary women. **European Journal of Applied Physiology**, v. 113, p. 2361-2369, 2013.

ATALE, N.; SAXENA, S.; NIRMALA, J. G., NARENDHIRAKANNAN, R. T.; MOHANTY, S.; RANI, V. Synthesis and Characterization of Syzygium cumini Nanoparticles for Its Protective Potential in High Glucose-Induced Cardiac Stress: a Green Approach. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 181, n. 3, p. 1140-1154, 2017.

ATALE, N.; RANI, V. GC-MS analysis of bioactive components in the ethanolic and methanolic extract of *Syzygium cumini*. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 4, p. 296-304, 2013.

AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGÜELLES, S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 1-34, 2014.

AYYANAR, M.; BADU-SUBASH, P. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific Journal of Topical Biomedicine**, v. 2, p. 240-246, 2012.

AZZI, A. Many tocopherols, one vitamin E. **Molecular Aspects of Medicine**, p. 1-12, 2017.

BADAWAY, M. E. I.; ABDELGALEIL, S. A. M.; Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 776-782, 2014.

BALIGA, M. S.; BHAT, H. P.; BALIGA, B. R. V.; WILSON, R.; PALATTY, P. L. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia Jambolana* Lam. (black plum): a review. **Food Research International**, v. 44, p. 1776-1789, 2011.

BALDISSERA, G.; SPEROTTO, N. D.; ROSA, H. T.; HENN, J. G.; PERES, V. F.; MOURA, D. J.; ROEHRS, R.; DENARDIN, E. L.; DAL LAGO, P.; NUNES, R. B.; SAFFI, J. Effects of crude hydroalcoholic extract of *Syzygium cumini* (L.) Skeels leaves and continuous aerobic training in rats with diabetes induced by a high-fat diet and low doses of streptozotocin. **Journal Ethnopharmacology**, v. 26, 2016.

BEDARD, K.; KRAUSE, K. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidase: physiology and pathophysiology. **Physiological Reviews**, v. 87, p. 245-313, 2007.

BENHERLAL, P. S.; ARUMUGHAN, C. Chemical composition and *in vitro* antioxidante studies on *Syzygium Cumini* Fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 87, p. 25600-2569, 2007.

BELVIRANLI, M.; GOKBEL, H.; OKUDAN, N.; BASARALI, K. Effects of grape seed extract supplementation on exercise-induced oxidative stress in rats. **British Journal of Nutrition**, v. 108, p. 249-256, 2012.

BERNARD, K.; LOGSDON, N. J.; RAVI, S.; XIE, N.; PERSONS, B. P.; RANGARAJAN, S.; ZMIJEWSKI, J. W.; MITRA, K.; LIU, G.; DARLEY-USMAR, V. M.; THANNICKAL, V. J. Metabolic Reprogramming Is Required for Myofibroblast Contractility and Differentiation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 290, p. 25427-25438, 2015.

BLOOMER, R. J. Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. **Advances in Clinical Chemistry**, v. 46, p. 1–50, 2008.

BOGDANIS, G. C.; STAVRINO, P.; FATOUROS, I. G.; PHILIPPOU, A.; CHATZINIKOLAOU, A.; DRAGANIDIS, D.; ERMIDIS, G.; MARIDAKI, M. Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. **Food and Chemical Toxicology**, v. 61, p. 171-177, 2013.

BRADSHAW, M. P.; BARRIL, C.; CLARK, A. C.; PRENZLER, P. D.; SCOLLARY, G. R. Ascorbic acid: A review of its chemistry and reactivity in relation to a wine environment. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, p. 479-498, 2011

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidante activity. **Lebensm-Wiss-Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional safety. **Annual Review of Nutrition**, v. 56, p. 317-333, 1998.

BUDNI, P.; PETRONILHO, F. C.; CITADINI-ZANETTE, V.; MARCONES, C.; ZOCH, C.; Z.; REGINATTO, F. H.; DAL-PIZZOL, F. Estudos preliminares da atividade antioxidante do extrato hidroetanólico de folhas jovens e adultas de *Tabebuia heptaphylla*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, p. 394-398, 2007.

CASPERSEN, C. J.; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise and physical fitness: Definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Reports**, v. 100, p. 126-131, 1985.

CATALA, A. Five decades with polyunsaturated fatty acids: Chemical synthesis, enzymatic formation, lipid peroxidation and its biological effects. **Journal of Lipidis**, v. 2013, p. 01-19, 2013.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificações estruturais para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, 1998.

CHATTERJEE, K.; ALI, K. M.; DE, D.; PANDA, K. D.; GHOSH, D. Antidiabetic and antioxidative activity of ethyl acetate fraction of hidromethanolic extrat of seed of *Eugenia Jmabolana* Linn through in-vivo and in-vitro study and its chromatographic purification. **Free radicals and Antioxidants**, v. 2, n. 1, p. 21-30, 2012.

CHAVES, M. H.; SOUZA, C. M de M.; ROCHA E SILVA, H.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. da; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. de M.; BRANDÃO, M. S. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 341-355, 2007.

CHENG, D.; WANG, R.; WANG, C.; HOU, L. Mung bean (*Phaseolus radiatus* L.) polyphenol extract attenuates aluminum-induced cardiotoxicity through an ROS-triggered Ca²⁺/JNK/NF-κB signaling pathway in rats. **Food & Function**, v. 22, p. 851-859, 2017.

CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU, M.; MUZYKANTOV, V. R. Antioxidant strategies in respiratory medicine. **Treatement Respirator Medicine**, v. 5, p. 47-78. 2006.

CORCORAN, A.; GOTTER, T. G. Redox regulation of protein kinase. **FEBS Journal**, v. 280, p. 1944-1965, 2013.

CUNHA, R. R.; CUNHA, V. N. C.; SEGUNDO, P. R.; MOREIRA, S. R.; KOKUBUN, E.; CAMPBELL, C. S. G.; OLIVEIRA, R. J.; SIMÕES, H. G. D. Determination of the lactate threshold and maximal blood lactate steady state intensity in aged rats. **Cell Biochemistry and Function**, v. 27, p. 351-357, 2009.

D'ANTONA, G. **Nutritional interventions as potential strategy to minimize exercise-induced muscle injuries in sports**. Set. 2013, cap. 2, p. 63-93. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5772/56590>. Acesso em: 29 Mai. 2017

DAVIS, J. M.; CARLSTEDT, C. J.; CHEN, S.; CARMICHAEL, M. D.; MURPHY, E. A. The dietary flavonoid quercetin increases VO₂max and endurance capacity. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 20, p. 56-62, 2010.

DEMENCE, R, TRINDADE, C. S.; DEGIOVANNI, G. C.; GARLIP, M. R.; PORTARI, G. V.; TEXEIRA, M. JORDAO, A. A. Oxidative stress biomarkers response to high intensity interval training and relation to performance in competitive swimmers. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 50, p. 356-362, 2010.

DIAS, C.N.; RODRIGUES, K.A.F.; CARVALHO, F. A. A.; CARNEIRO, S. M. P.; MAIA, J.G.S.; ANDRADE, E.H.A.; MORAIS, D.F.C. Molluscicidal and Leishmanicidal activity of leaf essential oil of *Syzygium cumini* (L.) Skeels from Brazil. **Chem. Biodivers**, v. 10, p. 1132–1141, 2013.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A.; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Science**, v. 65, n. 4, p. 337-353, 1999.

DOS SANTOS, J. L.; DANTAS, R. E. A.; LIMA, C. L.; ARAÚJO, S. S.; DE ALMEIDA, E. C. V.; MARÇAL, A. C.; ESTEVAM, C. S. Protective effect of a hydroethanolic extract from *Bowdichia virgilioides* on muscular damage and oxidative stress caused by strenuous resistance training in rats. **Journal of International Society of Sports Nutrition**, v. 11, p. 1-10, 2014.

DREW, M. K.; FINCH, C. F. The relationship between training load and injury, illness and soreness: A systematic and literature review. **Sports Medicine**, v. 46, n. 6, p. 861-883, 2016.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1571-1578, 2011.

FANG, Y.; YANG, S.; WU, G. Free radicals, Antioxidants, and Nutrition. **Nutrition**, v. 18, p. 872-879. 2002.

FAURE, P.; LAFOND, J. L. Measurement of plasma sulphydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. **Birkhäuser Verlag**, p. 237-248, 1995.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, p. 61-68, 1997.

FIANDER, H.; SCHNEIDER, H. Dietary ortho phenols that induce glutathione S-transferase and increase the resistance of cells to hydrogen peroxide are potential cancer hemopreventives that act by two mechanism: the alleviation of oxidative stress and the detoxification of mutagenic xenobiotics. **Cancer Letters**, v. 156, n. 2, p. 117-124, 2000.

FISCHER, C. P. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance?. **Exercise Immunology Review**, v. 12, p. 6-33, 2006.

FISCHER, G.; SCHWARTZ, D. D.; QUINDRY, J.; BARBEIRO, M. D.; FOSTER, E. B.; JONES, K. W.; PASCOE, D. D. Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-intensity interval exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 10, p. 730-737, 2011.

FLECKNELL, P. **Laboratory Animal Anaesthesia**. 3. ed. Londres: Academic press, 2009. 298 p.

FORTES, M. B.; DI FELICE, U.; DOLCI, A.; JUNGLEE, N. A.; CROCKFORD, M. J.; WEST, L.; HILLIER-SMITH, R.; MACDONALD, J. H.; WALSH, N. P. Muscle-damaging exercise increases heat strain during subsequent exercise heat stress. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 45, n. 10, p. 1915-1924, 2013.

FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative stress; relationship with exercise and training. **Sports Medicine**, v. 36, n. 4, p. 327-358, 2006.

FISHER-WELLMAN, K.; BLOOMER, R. J. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. **Dynamic Medicine**, v. 8, n. 1, 2009.

FREI, B.; BIRLOUEZ-ARAGON, I.; LYKKESFELDT, J. Authors' perspective: what is the optimum intake of vitamin C in humans? **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, p. 815-829, 2012.

GARCIA, C. S.; GROTO, D.; BULCÃO, R. P.; MORO, A. M.; ROEHRS, M.; VALENTINI, J.; FREITAS, F. A de. PANIZ, C.; BUBOLS, G. B.; CHARÃO, M. F. Evaluation of lipid damage related to pathological and physiological conditions. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 306–312, 2013.

GIBALLA, M. J.; MCGEE, S. L. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? **Exercise and Sports Science Reviews**, v. 36, p. 58-63, 2008.

GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 130, p. 21-27, 2001.

GOYAL, P. K.; VERMA, P.; SHARMA, P.; PARMA, J.; AGARWAL, A.; Evaluation of Anti-Cancer and Anti-Oxidative Potential of Syzygium Cumini Against Benzo[a]pyrene (BaP) Induced Gastric Carcinogenesis in Mice. **Asian Pacific J. Cancer Prev**, v. 11, p. 753-758, 2010.

GROUSSARD, C. RANNOU-BEKONO, F.; MACHEFER, G.; CHEVANNE, M.; VINCENT, S.; SERGENT, O.; CILLARD, J.; GRATS-DELAMARCHE, A. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 89, n. 1, p. 14-20, 2003.

HAWLEY, J. A.; BURKE, L. M.; PHILIPS, S. M.; SPRIET, L. L. Nutritional modulation of training-induced skeletal muscle adaptations. **Journal applied of physiology**, v. 110, p. 834-845, 2011.

HALLIWEL, B. Cell culture, oxidative stress, and antioxidants: avoiding pitfalls. **Biomedical Journal**, v. 37, p. 99-105, 2014.

HAWLEY, J. A.; HARGREAVES, M.; JOYNER, M. J.; ZIERATH, J. R. Integrative Biology of Exercise. **Cell**, v. 159, p. 738-749, 2014.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 572-582, 2002.

HEINONEN, I.; KALLIOKOSKI, K. K.; HANNUKAINEN, J. C.; DUNCKER, D. J.; NUUTILA, P.; KNUUTI, J. Organ-Specific Physiological Responses to Acute Physical Exercise and Long-Term Training in Humans. **Physiology**, v. 29, p. 421-436, 2014.

HERRLINGER, K. A.; CHIROUZES, D. M.; CEDDIA, M. A. Supplementation with a polyphenolic blend improves post-exercise strength recovery and muscle soreness. **Food & Nutrition**, v. 59, p. 1-10, 2015.

HOLMSTRÖM, K. M.; FINKEL, T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signaling. **Molecular Cell Biology**, v. 15, p. 412-421, 2014.

HOSSAIN, H.; RAHMAN, S. E.; AKBAR, P. N.; KAN, T. A.; RAHMAN, Md. M.; JAHAN, I. A. HPLC profiling, antioxidant and in vivo anti-inflammatory activity of the ethanol extract of *Syzygium Jambos* available in Bangladesh. **BMC Res. Notes**, v. 191, p. 1-8, 2016.

HYEON, S.; LEE, H.; YANG, Y.; JEONG, W. Nrf2 deficiency induces oxidative stress and promotes RANKL-induced osteoclast differentiation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 63, p. 789-799, 2013.

HUANG, C-C.; TSAI, S-C.; LIN, W-T. Potential ergogenic effects of L-arginine against oxidative and inflammatory stress induced by acute exercise in aging rats. **Experimental Gerontology**, v. 43, n. 6, p. 571–577, 2008.

JACOBS, R.; LUNDBY, C. Mitochondria express enhanced quality as well as quantity in association with aerobic fitness across recreationally active individuals up to elite athletes. **Journal Applied of Physiology**, v. 26, p. 5192- 5200, 2013.

JACKSON, M. J. Redox regulation of muscle adaptations to contractile activity and aging. **Journal Applied of Physiology**, v. 119, p. 163-171, 2015.

JACKSON, M. J.; MCARDLE, A. Age-related changes in skeletal muscle reactive oxygen species generation and adaptive responses to reactive oxygen species. **Journal Physiology**, v. 539, p. 2139-2145, 2011.

JABEEN, G. C.; JAVAID, A. Antifungal activity of *Syzygium cumini* against *Ascochyta rabiei*—The cause of chickpea blight. **Natural Product Research**, v. 24, p. 1158-1167, 2010.

JONES, D. P. Redefining oxidative stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 8, p. 1865-1879, 2006.

KALININA, E. V.; CHERNOV, N. N.; NOVICHKOVA, M. D. Role of Glutathione, Glutathione Transferase, and Glutaredoxin Regulation of Redox-Dependent Processes. **Biochemistry (Moscow)**, v. 79, p. 1562-1583, 2014.

KHAN, K. M.; THOMPSON, A. M.; BLAIR, S. N.; SALLIS, J. F.; POWELL, K. E.; BULL, F. C.; BAUMAN, A. E. Sport and exercise as contributors to the health of nations. **Lancet**, v. 380, p. 59-64, 2012.

KSHIRSAGAR, R.; UPADHYAY, S. Free radical scavenging activity screening of medicinal plants from Tripura, Northeast India. **Natural product Radiance**, v. 8, p. 117-122, 2009.

KIM, H. S.; QUON, M. J.; KIM, J. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate. **Redox Biology**, v. 2, p. 187-195, 2014.

KOCHLIK, B.; GRUNE, T.; WEBER, D. New findings of oxidative stress biomarkers in nutritional research. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 20, p. 1-11, 2017.

KONGPICHITCHOKE, T.; HSU, J. L.; HUANG, T. C. Number of Hydroxyl Group on the B-ring of Flavonoids Affects Their Antioxidant Activity and Interaction with Phorbol Ester Binding Site of PKC β C1B Domain: In-vitro and In-silico Study. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 63, p. 4580-4586, 2015.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, v. 16, p. 433-441, 2013.

KUMARAN, A.; KARUNAKARAN, R. J. In vitro antioxidante activities of metanol

KUMAMOTO, M.; SONDA, T.; NAGAYAMA, K.; TABATA, M. Effect of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 65, p. 126-136, 2001.

LAMOU, B.; TAIWE, G. S.; HAMADOU, A.; HOULRAY, J.; ATOUR, M. M.; TAN, P. V. Antioxidant and antifatigue properties of the aqueous extract of *Moringa oleifera* in rats subjected to forced swimming endurance test. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2016, p. 1-9, 2016.

LAPENNA, D.; CIOFANI, G.; PIERDOMENICO, S. D.; GIAMBERARDINO, M. A.; CUCCURULLO, F. Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 21, p. 331-335, 2001.

LEWIS, N. A.; HOWATSON, G.; MORTON, K.; HILL, J.; PEDLAR, C. R. Alterations in redox homeostasis in the elite endurance athlete. **Sports Medicine**, v. 45, p. 379-409, 2015.

LEWIS, N. A.; REDGRAVE, A.; HOMER, M.; BURDEN, R.; MARTINSON, W.; MOORE, B.; PEDLAR, C. R. Alteration in redox homeostasis during recovery from unexplained underperformance syndrome in an elite international rower. **International Journal of Sports physiology and Performance**, p.1-15, 2017.

LIPINSKI, B. Hydroxyl radical and its scavengers in health and disease. **Oxid Med Cell Longev**, 2011.

LITTLE, J. P.; SAFDAR, A.; WILKIN, G. P.; TARNOPOLSKY, M. A.; GIBALA, M. J. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. **The Journal of Physiology**, v. 588, p. 1011-1022, 2010.

MACINNIS, M. J.; GIBALA, M. J. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. **Journal of Physiology**, v. 595, p. 2915-2930, 2017.

MCANULTY, S. R.; MCANULTY, L. S.; NIEMAN, D. C.; DUMKE, C. L.; MORROW, J. D.; UTTER, A. C.; HENSON, D. A.; WILLIAN, R. P.; GEORGE, G. L. Consumption of blueberry polyphenols reduces exercise-induced oxidative stress compared to vitamin C. **Nutrition Research**, v. 24 p. 209-221, 2004.

MADHU, G.; SHARMA, S.; BHADAURIA, R. Fungitoxic activity of fruit extracts of *Syzygium cumini* (L.) Skeels against plant pathogenic fungi *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 48, p. 354-364, 2015.

MATTSON, M. P. Hormesis defined. **Ageing Research Reviews**, v. 7, p. 1-7, 2008.

MANACH, C, SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727-747, 2004.

MALAGUTI, M.; ANGELONI, C.; HRELIA, S. Polyphenols in exercise performance and prevention of exercise-induced muscle damage. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, p. 1-9, 2013.

MARIN D. P.; BOLIN, A. P.; CAMPOIO, T. R.; GUERRA, B. A.; OTTON R. Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: Implications for sport training monitoring. **International Immunopharmacology**, v. 17, p. 462-470, 2013.

MARGARITIS, I.; ROUSSEU, A. S. Does physical exercise modify antioxidante requirements? **Nutrition Research Reviews**, v. 21, p. 3-12, 2008.

MARKOVIC, J. M. D.; MARKOVIC, Z. S.; PASTI, I. A.; BRDARIC, T. P.; POPOVIC-BIJELIE, A.; MOJOVIC, M. A joint application of spectroscopic, electrochemical and theoretical approaches in evaluation of the radical scavenging activity of 3-OH flavones and their iron complexes towards different radical species. **Dalton Transactions**, v. 41, p. 7295-7303, 2012.

MAZZANTI, C. M.; SCHOSSLER, D. R.; FILAPPI, A.; PRESTES, D.; BALZ, D.; MIRON, V.; MORSCH, A.; SCHETINGER, M. R. C.; MORSCH, V. M.; CECIM, M. Extrato da casca de *Syzygium Cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos. **Revista Ciência Rural**, v. 33, p. 1061-1065, 2003.

MBAEBIE, B. O.; EDEOGA, H. O.; AFOLAYAN, A. J. Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia Lafitolia Jacq*, **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 10, p. 118-124, 2012.

MCRAE, G.; PAYNE, A.; ZELT, J. G. E.; SCRIBBANS, T. D.; JUNG, M. E.; LITTLE, J. P.; GURD, B. J. Extremely low volume, whole-body aerobic-resistance training improves aerobic fitness and muscular endurance in females. **Applied Physiology Nutrition Metabolism**, v. 37, p. 1124-1131, 2012.

MEEUSEN, R.; DUCLOS, M.; FOSTER, C.; FRY, A.; GLEESON, M.; NIEMAN, D.; RAGLIN, J.; RIETJENS, G.; STEINACKER, J.; URHAUSEN, A. Prevention, Diagnosis, and Treatment of the Overtraining Syndrome: Joint Consensus Statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 45, p. 186-205, 2013.

METCALFE, R. S.; KOUMANOV, F.; RUFFINO, J. S.; HOLMAN, G. D.; THOMPSON, D.; VOLLAARD, N. B. J. Physiological and molecular responses to an acute bout of reduced-exertion high-intensity interval training (REHIT). **European Journal of Applied Physiology**, v. 115, p. 2321-2132, 2015.

MATES, J. M.; PEREZ-GOMEZ, C.; & DE CASTRO, I. N. Antioxidant enzymes and human diseases. **Clinical Biochemistry**, v. 32, p. 595-603, 1999.

MIGLIATO, K. F.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N.; TOGNOLLI, J. O.; SACRAMENTO, L. V. S.; MELLO, J. C. P. de; GIANNINI, M. J. S. M.; ALMEIDA, A. M. F.; PIZZOLITO, A. C. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium Cumini* (L.) Skeels. **Revista Química Nova**, v. 34, p. 695-699, 2011.

MOAL, E. L.; GROUSSARD, C.; PAILLARD, T.; CHAORY, K. BRIS, R. L.; PLANTET, K.; PINCEMAIL, J.; ZOUHAL, H. Redox Status of Professional Soccer Players is Influenced by Training Load Throughout a Season. **International Journal of Sports Medicine**, v. 37, p. 680-686, 2016.

MORAN, L. K.; GUTTERIDGE, J. M. C.; QUINLAN, G. J. Thiols in cellular redox signaling and control. **Current Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 763-772, 2001.

MOREIRA, Leise Nascimento. Perfil químico e atividades biológicas dos extratos e frações das folhas e das entrecascas de *Syzygium cumini* (L) Skeels. 2014. 68 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia de Recursos Naturais) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2014.

MORRISON, D.; HUGHES, J.; DELLA GATTA, P. A.; MASON, S.; LAMON, S.; RUSSELL, A. P.; WADLEY, G. D. Vitamin C and E supplementation prevents some of the cellular adaptations to endurance-training in humans. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 89, p. 852-862, 2015.

MOSCARDINI, F.; BARBOSA, E. H.; GARCIA, E. F.; BORGES, A, P, O.; BACHUR, J, A.; QUEMELO, P. R. V. Efeito da cinesioterapia na lesão isquêmica e reperfusão em ratos. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 20, p. 131-135, 2012.

MYBURGK. K. H. Polyphenol Supplementation: Benefits for Exercise Performance or Oxidative Stress? **Sports Medicine**, v. 44, p. S57-S70, 2014.

NIKOLAIDIS, M. G.; KERKSICK, C. M.; LAMPRECHT, M.; MCANULTY, S. R. Does vitamin C and E supplementation impair the favorable adaptations of regular exercise. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, p. 1-11, 2012.

NISHANDHINI, S.; SUDHA, V.; MALLAVARAPU, G. R.; MURUGAN, R. Chemical compositions α -amilase inhibitory and antioxidante activities of the essential oils from unripe fruit pulp and leaves of *Syzygium cumini*. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, p. 511-514, 2015.

OMAR, R.; LI, L.; YUAN, T.; SEERAM, N. P. α -Glucosidase inhibitory Hydrolyzable Tannins from *Eugenia jambolana* Seeds. **Journal Natural Products**, v. 75, p. 1505-1509, 2012.

PAJARES, M.; JIMÉNEZ-MORENO, N.; DIAS, I. H. K.; DEBELEC, B.; VUCETIC, M.; FLADMARK, K. E.; BASAGA, H.; RIBARIC, S.; MILISAV, I.; CUADRADO, A. Redox control of protein degradation. **Redox Biology**, v. 6, p. 409-420, 2015.

PAN, H.; FINKEL, T. Key proteins and pathways that regulate lifespan. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 291, p. 6452-6460, 2017.

PANZA, V. S. P.; DIEFENTHAELER, F.; DA SILVA, E. L. Benefits of dietary phytochemical supplementation on eccentric exercise-induced muscle damage: is including antioxidants enough? **Nutrition**, v. 21, p. 1072-1082, 2015.

PANZA, V. S. P.; WAZLAWIK, E.; SCHÜTZ, R. G.; COMIN, L.; HECHT K. C.; SILVA, E. L. Consumption of green tea favorably affects oxidase stress marks in weight-trained man. **Nutrition**, v. 24, p. 433-442. 2008.

PERRY, J. J. P.; SHIN, D. S.; GETZOFF, E. D.; TAINER, J. A. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. **Biochemica et Biophysica Acta**, v. 1804, p. 245-262, 2010.

PINGITORE, A.; LIMA, G. P. P.; MASTORCI, F.; QUINONES, A.; LERVASI, G.; VASSALLE, C. Exercise and oxidative stress: Potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. **Nutrition**, v. 31, p. 916-922, 2015.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a Review. **European journal of medicinal chemistry**, v. 97, p. 55-74, 2015.

PHILIPS, S. M. Brief review of critical processes in exercise-induced muscular hypertrophy. **Sports Medicine**, v. 44, p. 71-77, 2014.

POLJSKAK, B.; SUPUT, D.; MILISAV, I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. **Oxidative Medicine and Cellular**

longevity, 2013.

POWERS, S. K.; TALBERT, E. E.; ADHIHETTY, P. J. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, v. 589, n. 9, p. 2129-2138, 2011.

POWERS, S. K.; JACKSON, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiology Review**, v. 88, p. 1243-1276, 2008.

QUINTAS, J. S. S.; BRITO, R. G.; AQUINO, P. G. V.; FRANÇA, P. H. B.; SIQUEIRA-LIMA, P. S.; SANTANA, A. E. G.; RIBEIRO, E. A. N.; SALVADOR, M. J.; ARAÚJO-JÚNIOR, J. X.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Antinociceptive activity of *Syzygium cumini* leaves ethanol extract on orofacial nociception protocols in rodents. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, p. 762-766, 2014.

RAMOS-FILHO, D.; CHICAYBAM, G.; SOUZA-FERREIRA, E.; MARTINEZ, C. G.; KURTENBACH, E.; CASIMIRO-LOPES, G.; GALINA, A. High intensity interval training (HIIT) induces specific changes in respiration and electron leakage in the mitochondria of different rat skeletal muscles, **Plos one**, v. 10, p. 1-20, 2015

RATNAM, D. V.; ANKOLA, D. D.; BHARDWAJ, V.; SAHANA, D. K.; KUMAR, M. N. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, v. 113, p. 189-207, 2006.

REZENDE, W. P.; BORGES, L. L.; ALVES, N. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R. Chemical variability in the essential oils from leaves of *Syzygium jambos*. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 23, p. 433-440, 2013.

ROBACZEWSKA, J.; KEDZIORA-KORNATOWSKA, K.; KOZAKIEWICZ, M.; ZARYSIKORSKA, E.; PAWLUK, H.; PAWLISZAK, W.; KEDZIORA, J. Role of glutathione metabolism and glutathione-related antioxidant defense systems in hypertension. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 67, p. 331-337, 2016.

RUAN, Z. P.; ZHANG, L. L.; LIN, Y. M. Evaluation of the antioxidant activity of *Syzygium cumini* leaves. **Molecules**, v. 13, p. 2545-2556, 2008.

RUFFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S de; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 96-1002, 2010.

RUFFINO, J. S.; SONGSORN, P.; HAGGETT, M.; EDMONDS, D.; ROBINSON, A. M.; THOMPSON, D.; VOLLAARD, N. B. J. A comparison of the health benefits of reduced-exertion high-intensity interval training (REHIT) and moderate-intensity walking in type diabetes patients. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 42, p. 202-208, 2017.

RYAN, M. J.; DUDASH, H. J.; DOCHERTY, M.; GERONILLA, K. B.; BAKER, B. A.; HAFF, G. G.; CUTLIP, R. G.; ALWAYS, S. E. Vitamin E and C supplementation reduces oxidative stress, improves antioxidant enzymes and positive muscle work in chronically load muscle of aged rats. **Experimental Gerontology**, v. 45, p. 882-892, 2010.

SAROJ, A.; PRAGADHEESH, V. S.; PALANIVELU; YADAV, A.; SINGH, S. C.; SAMAD, A.; NEGI, A. S.; CHANOTIYA, C. S.; Anti-phytopathogenic activity of *Syzygium cumini* essential oil, hydrocarbon fractions and its novel constituents. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 327-335, 2015.

SARFSTEIN R.; WERNER, H. Minireview: Nuclear insulin and insulin-like growth factor-1 receptors: A novel paradigm in signal transduction. **Endocrinology**, v. 18, p. 1-8, 2013.

SCHERER, P.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, p. 654-658, 2009.

SCHIEBER, M.; CHANDEL, N. S. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. **Current Biology**, v. 24, p. R453-R462, 2014.

SCHOENFELDER, T.; WARMLIN, C. Z.; MANFREDINI, M. S.; PAVAI, L. L.; RÉUS, J. V.; TRISTÃO, T. C.; FERNANDES, M. S.; COSTA-CAMPOS, L. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of leaves from *Syzygium cumini* (L.) Skeels, Myrtaceae in diabetic rats. **Brazilian Journal of Farmacognosy**, v. 20, p. 222-227, 2010.

SCULTHORPE, N. F.; HERBERT, P.; GRACE, F. One session of high-intensity interval Training (HIIT) every 5 days, improves muscle power but not static balance in lifelong sedentary ageing men. **Medicine**, v. 96, p. 1-8, 2017.

SENNA, L. A.; CHANDEL, N. S. Physiological roles of mitochondrial reactive species. **Molecular Cell**, v. 48, p. 158-167, 2012.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SHARMA, A. K.; BHARTI, S.; KUMAR, R.; KRISHNAMURTHY, B.; BHATIA, J.; KUMARI, S.; ARYA, S. D. Syzygium cumini Ameliorates Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction via Modulation of PPAR γ , Dyslipidemia, Oxidative Stress, and TNF- α in Type 2 Diabetic Rats. **Journal of Pharmacological Science**, v. 119, p. 205-213, 2012.

SHARMA, B. S.; TANWAR, R. S.; NASIR, A.; PRABHU, K. M. Antihyperlipidemic effect of active principle isolated from seed of *Eugenia Jambolana* on Alloxan-Induced diabetic Rabbits. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, p. 353-359, 2011.

SHARMA, B. S.; VISWANATH, G.; SALUNKE, R.; ROY, P. Effect of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia Jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. **Food Chemistry**, v. 110, p. 697-705, 2008.

SHEYKHLOUVAND, M.; KHALILI, E.; AGHA-ALINEJAD, H.; GHARAAT, M. Homonal and physiological adaptations to high-intensity interval training in professional male canoe polo athletes. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 30, p. 859-866, 2016.

SIES, H. Oxidative stress: Introductory remarks. In: SIES, H. **Oxidative stress**. 1. ed. London: Academic Press, 1985. cap. 1, p. 1-8.

SIES, H.; JONES, D. Oxidative stress. In: FINK, G. **Encyclopedia of stress**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2007. cap. 2, p. 45-48.

SLATTERY, K.; BENTLEY, D.; COUTTS, A. J. The role of oxidative, inflammatory and neuroendocrinological systems during exercise stress in athletes: Implications of antioxidant supplementation on physiological adaptation during intensified physical training. **Sports Medicine**, v. 45, p. 453-471, 2015.

SRIVASTAVA, S.; CHANDRA, D. Pharmacological potentials of *Syzygium cumini*: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 2084–2093, 2013.

SOLER-RIVAS, C.; ESPÍN, J. C.; WICHES, H. J. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 330-338, 2000.

SOLIGARD, T.; SCHWELNUS, M.; ALONSO, J.; BAHR, R.; CLARSEN, B.; DIJKSTRA, H. P.; GABBETT, T.; GLEESON, M.; HAGGLUND, M.; HUTCHINSON, M. R.; RENSBURG, C. J. V.; KHAN, K. M.; MEEUSEN, R.; ORCHARD, J. W.; PLUIM, B. M.; RAFTERY, BUDGETT, R.; ENGBRETSSEN, L. How much is too much? (Part 1)

International Olympic Committee consensus statement on load in sport and risk of injury. **British Journal of Sports Medicine**, 50, p. 1030-141, 2016.

SOWELL, J.; FREI, B.; STEVENS, J. F. Vitamin C conjugates of genotoxic lipid peroxidation products: structural characterization and detection in human plasma. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, p. 17964-17969, 2004.

SPAGOLLA, L. C.; SANTOS, M. M.; PASSOS, L. M. L.; AGUIAR, C. L. Extração alcoólica de fenólicos e flavonóides totais de mirtilo "Rabbiteye" (*Vaccinium ashei*) e sua atividade antioxidante. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, p. 59-64, 2009

STANOJEVIC, D.; JAKOVLJEVIC, V.; BARUDZIC, N.; ZIVKOVIC, V.; SREJOVIC, I.; ILIC, K. P.; CUBRILO, D.; AHMETOVIC, Z.; PERIC, D.; ROSIC, M.; RADOVANOVIC, D.; DJORDJEVIC, D. Overtraining does not induce oxidative stress and inflammation in blood and heart of rats. **Physiology Research**, v. 65, p. 81-90, 2016.

STEINBACHER, P.; ECKL, P. Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. **Biomolecules**, v. 5, p. 356-377, 2015.

STOE, E. M.; MELING, S.; NYHUS, L.; STROMSTAD, G.; MANGERUD, K. M.; HELGERUD, J.; BRATLAND-SANDA, S.; STOREN, O. High-intensity aerobic interval training improves aerobic fitness and HbA1c among persons diagnosed with type 2 diabetes. **European Journal of Applied Physiology**, v. 117, p. 455-467, 2017.

SUREDA, A.; TEJADA, S.; BIBILONI, M. D. M.; TUR, J. A.; PONS, A. Polyphenols: Well Beyond the Antioxidant Capacity: Polyphenol Supplementation and Exercise-Induced Oxidative Stress and Inflammation. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 15, p. 373-379, 2014.

TANWAR, R. S.; SHARMA, S. B.; PRABHU, K. M. In vivo assessment of antidiabetic and antioxidative activity of natural phytochemical isolated from fruit-pulp of *Eugenia jambolana* in streptozotocin-induced diabetic rats. **Redox Report**, p. 1-7, 2016.

TERADA, S.; YOKOZEKI, T.; KAWANAKA, K.; OGAWA, K.; HIGUCHI, M.; EZAKI, O.; TABATA, IZUMI. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, v. 90, p. 2019-2024, 2001.

TIMBOLA, A. K.; SZPOGANICZ, B.; BRANCO, A.; MONACHE, F. D.; PIZZOLATTI, M. G. A new flavonoid from leaves of *Eugenia Jambolana*. **Fitoterapia**, v. 73, p. 174-176, 2002.

TROST, S. G.; OWEN, N.; BAUMAN, A. E.; SALLIS, J. F.; BROWN, W. Correlates of adults participation in physical activity: review and update. **Medicine and Science in Sports Exercise**, v. 34, p. 1996-2001, 2002.

VACCA, R. A.; VALENTI, D.; CACCAMESE, S.; DAGLIA, M.; BRAIDY, NABAVI, S. M. Plant polyphenols as natural drugs for the management of down syndrome and related disorders, **Neuroscience and Biobehavioral reviews**, v. 71, p. 865-877, 2016.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 44-84, 2007.

VARAMENTI, E. I.; KYPAROS, A.; VESKOUKIS, A. S.; BAKOU, M.; KALABOKA, S.; JAMURTAS, A. Z.; KOUTEDAKIS, Y.; KOURETAS, D. Oxidative stress, inflammation and angiogenesis markers in elite female water polo athletes throughout a season. **Food and Chemical Toxicology**, v. 61, p. 3-8, 2013.

VERBER, J.; PETRINI, L. A.; ANDRADE, L. B; SIVIERO, J. Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão (*Syzygium cumini* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, p. 267-273, 2015.

VEZZOLI, A.; DELLANOCE, C.; MRAKIC-SPOSTA, S.; MONTORSI, M.; MORETTI, S.; TONINI, A.; PRATALI, L.; ACCINNI, R. Oxidative Stress Assessment in Response to Ultraendurance Exercise: Thiols Redox Status and ROS Production according to Duration of a Competitive Race. **Oxidative Medicine and Cellular longevity**, 2016.

WANG, X.; HAIC, C. Novel insights into redox system and the mechanism of redox regulation. **Molecular Biology Reports**, v. 43, p. 607-628, 2016.

YE, Z. W.; ZHANG, J.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. **Biochimicals et biophysical acta**, v. 1850, p. 1607-1621, 2015.

ZEMBRON-LACNY, A.; NACZK, M.; OSTAPIUK-KAROLCZUK, J.; DZIEWIECKA, H.; KASPERSKA, A.; SZYSZKA, K. Changes of muscle-derived cytokines in relation to thiol redox status and reactive oxygen and nitrogen. **Physiology Research**, v. 59, p. 945-951, 2010.